Finnigan™
TSQ®
Quantum Discovery MAX™

入门手册

70111-97062　修订本 A　**2004**年**4**月

Thermo
ELECTRON CORPORATION

本出版物中所包含的技术信息仅供参考，如有改动恕不另行通知。热电公司已尽力确保所提供信息的完整性和准确性。尽管如此，热电公司不对由于使用本手册或者手册中包含的信息而造成的任何错误、遗漏、损坏或者丢失负任何相关责任（即使是完全遵照手册所提供的信息进行的操作，但是问题依然存在的情况）。

本出版物并不是热电公司和LC/MS系统购买者之间的买卖协议。如果本文件所提供信息与热电公司使用条款中的规定发生冲突或不一致时，以使用条款为准。

系统配置和使用说明书取代所有以前的资料，如有改动恕不另行通知。

出版历史：版本A，2004年4月印刷。
软件版本：Quantum 1.2, Xcalibur 1.4

Thermo
ELECTRON CORPORATION

圣何塞市热电公司已通过ISO9001质量管理体系认证。

澳大利亚：Unit 14, 38-46 South Street Rydalmere, N.S.W. 2116 [61] (02) 9898-9000
奥地利：Wehlistrasse 27b A-1200 Wien [43] (01) 333 50 34-0
比利时：Technologiestraat 47 B-1082 Brussels [32] (02) 482 30 30
加拿大：5716 Coopers Avenue, Unit 1 Mississauga, Ontario L4Z 2E8 [1] (905) 712-2258
法国：16 Avenue du Québec Silic 765 Z.A. de Courtaboeuf F-91963 Les Ulis Cédex [33] (01) 60 92 48 00
德国：Im Steingrund 4-6 D-63303 Dreieich [49] (06103) 408 0
意大利：Strada Rivoltana I-20090 Rodano (Milano) [39] (02) 95059 226
日本：C-2F 3-9, Moriya-cho, Kanagawa-ku Yokohama, Kanagawa 221-0022 [81] (45) 453 9100
日本：Esaka Grand Building 2-3-1 Esaka-cho, Suita City Osaka 564-0063 [81] (06) 6387-6681
荷兰：Takkebijsters 1 NL-4817 BL Breda [31] (076) 5878 722
中华人民共和国：北京市西城区金融街23号平安大厦901房间，100032 [86] (010) 6621 0839
西班牙：Sepulveda 7 A ES-28108 Alcobendas (Madrid) [34] (091) 657 4930
西班牙：Acer 30-32 Edificio Sertram-Planta 2, Modulo 3 ES-08038 Barcelona [34] (093) 223 0918
瑞典：Pyramidbacken 3 S-141 75 Kungens Kurva (Stockholm) [46] (08) 556 468 00
英国：Stafford House 1 Boundary Park Boundary Way Hemel Hempstead Hertfordshire HP2 7GE [44] (01442) 233 555
美国：355 River Oaks Parkway San Jose, CA 95134-1991 [1] (408) 965-6000

注意：[ ]内是国家代码，（）内是城市代码。上述清单中，美国以外的国家的用户拨打本国电话请在城市代码前加拨0。除意大利外的其它国家的用户，在本国外拨打国内电话不需在城市代码前加拨0。

由加利福尼亚州圣荷塞热电公司技术出版社出版。



用户注册... 现在注册可享受作为热电菲尼根产品的用户所拥有的一切特权，包括应用报告和技术报告。

姓名 ______________________________

头衔 ______________________________

公司 ______________________________

地址 ______________________________

城市/地区/邮政编码 ______________________________

国家 ______________________________

电话 ______________________________分机号码

Finnigan TSQ Quantum Discovery MAX 序列号 # ______________________ 购买日期

更多信息... 可以让我们了解您使用本产品的更多信息：

组织机构（选一）	主要应用领域（选一）
☐商业（猎取利润）实验室	☐分析测试
☐政府实验室	☐生物医学
☐医院/门诊	☐临床/毒理学
☐研究院	☐能源
☐高等院校	☐食品/农业
☐兽医	☐法医学/毒物学
☐其它______________________	☐制药
	☐研究/教育
工作职能（选一）	☐其它
☐行政管理	☐
☐实验室管理	☐
☐操作者	☐
☐其它______________________	☐

读者调查... 通过回答一些问题，帮助我们提高文件的质量：

Finnigan TSQ Quantum Discovery MAX 入门教程				版本A *70111-97062*
	完全同意	同意	不同意	完全不同意
手册组织很好。	1	2	3	4
手册叙述清晰。	1	2	3	4
手册包括所有需要的信息。	1	2	3	4
操作说明简单易学。	1	2	3	4
操作说明非常完全。	1	2	3	4
技术信息很容易理解。	1	2	3	4
图片很有帮助。	1	2	3	4
参照手册可以操作系统。 （如果不可以请在下面说明。）	1	2	3	4

附加说明：（如需要可加附页）

____

____

____

____

将手册中该页剪下，折叠好，贴上邮票寄出。

折叠

自：



贴邮

票处

EDITOR, TECHNICAL PUBLICATIONS
THERMO ELECTRON SAN JOSE 355
RIVER OAKS PARKWAY
SAN JOSE, CA 95134-1991
UNITED STATES OF AMERICA



折叠

请在此处更改地址卡片

请在此处填写地址卡片变更后的地址

Thermo
ELECTRON CORPORATION

法规遵从

热电公司对旗下所有产品都进行了完全的测试和评价以确保符合国内、国际应用标准。当系统交付用户时符合下列所有电磁兼容性（EMC）和安全标准：

电磁兼容性认证

EN 55011	(1998)	EN 61000-4-4	(1995)
EN 61326	(1998)	EN 61000-4-5	(1995)
EN 61000-4-2	(1998)	EN 61000-4-6	(1996)
EN 61000-4-3	(1996)	EN 61000-4-11	(1994)
ENV 50204	(1995)	FCC Class A	

电磁兼容性问题已经过美国安全试验所(UL)的电磁兼容性技术服务体系的评价。

安全性遵从

EN 61010-1:2001低电压指令。

清注意：用户对系统所做的任何改动都可能导致系统不符合电磁兼容性和/或安全性标准中的一项或几项规定。
因此，用户改造系统包括更换零件时，要确保系统依然符合电磁兼容性和安全性标准要求。用户所更换的零件需从热电公司或者热电公司授权代表处定购。

美国联邦通讯协会声明（**FCC Compliance Statement**）

注意：本设备经测试证明符合FCC第15条关于A级数字设备的各项规定。这些限制是为在商业环境下安装运行而产生的有害干扰提供合理的保护而设计的。此装置可产生,使用和辐射无线射频能量.如果没有按照操作手册安装和使用,可能会对无线电通信产生有害的干扰。在居住区使用本设备极有可能造成有害的电磁干扰。在这种情况下，用户需要自行纠正有害干扰。



起重和搬运热电公司设备注意事项

为了您的安全，依照国际惯例，在吊装、搬运和/或移动热电公司生产的设备时需要*团队协作*，因为此设备重量和/或体积都很大，一个人不可能安全搬运。

正确使用热电公司设备注意事项

依照国际惯例：如果设备不按热电公司指定的方式使用，会降低仪器自身的保护功能。

目　　录

请先阅读

欢迎使用热电公司Finnigan™ TSQ Quantum Discovery MAX™系统！TSQ Quantum Discovery MAX是Finnigan质谱家族的一员。

TSQ Quantum Discovery MAX入门手册为用户提供如何安装、校准、调试TSQ Quantum Discovery MAX质谱仪和如何采集质谱数据等信息。所有这些操作都可以通过Tune Master来实现。

TSQ Quantum Discovery MAX入门手册包括如下章节：

第1章：简介　回答TSQ Quantum Discovery MAX质谱仪的典型问题，并列出了使用LC/MS设备进行典型分析测试的工作参数。

第2章：设置离子源调谐校准质谱仪　介绍在调试和校准质谱仪时如何配置离子源。

第3章：在ESI/MS/MS模式下调试和校准质谱仪　介绍如何调试和校准TSQ Quantum Discovery MAX质谱仪。

第4章：在ESI/MS/MS 模式下使用用户自己的化合物优化质谱仪　介绍使用用户感兴趣的化合物在ESI模式下优化仪器。

第5章：使用调节控制采集ESI/MS/MS数据　介绍如何通过设置TSQ Quantum Discovery MAX系统采集SRM数据，然后介绍采集ESI/MS/MS数据的简单步骤。

第6章：在APCI/MS/MS模式下数据采集的离子源设置　介绍了要采集APCI/MS/MS数据应如何设置APCI源。

第7章：在APCI/MS/MS 模式下使用用户自己的化合物来优化质谱仪　介绍使用用户感兴趣的化合物在APCI模式下如何优化调试仪器。

第8章：使用调节控制采集APCI/MS/MS数据　介绍如何通过设置TSQ Quantum Discovery MAX系统采集SRM数据，然后介绍采集APCI/MS/MS数据的简单步骤。

附录A：溶液配制　介绍通过TSQ Quantum Discovery MAX系统数据采集所需要准备和使用的溶液。

附录B：仪器方法建立指南 介绍了为TSQ Quantum Discovery MAX系统建立方法的指导方针。这些介绍可以用在全MS、全MS/MS、SIM MS、SIM MS/MS或SRM扫描类型下扫描参数的设置。

附录C：微流操作 介绍使用微流ESI选件的操作指南。

对手册的建议和在线帮助

如果对本手册有好的建议或需要获得在线帮助，请将您的意见或建议发送至：

Editor, Technical Publications Thermo Electron San Jose 355 River Oaks Parkway San Jose, CA 95134-1991 U.S.A.

如果您发现正文或索引中有错误或者遗漏请及时告知我们，谢谢！

缩略语

本手册、其它手册或者在线帮助中使用的缩略语如下。

A	安培
ac	交流电
ADC	模拟信号-数字信号转换器
AP	采集处理器
APCI	大气压化学电离
API	大气压电离
ASCII	美国信息互换标准代码
b	比特
B	字节（8比特）
baud rate	波特率，每秒钟能够传送的信息位的数量
°C	摄氏度
CD	光盘
CD-ROM	只读存储光盘
cfm	立方英尺/分钟
CI	化学电离
CIP	运费，保险费付至目的地
cm	厘米
cm^3	立方厘米
CPU	中央处理器（计算机）
CRC	循环冗余校验
CRM	连串反应监控
<Ctrl>	键盘上的控制键
d	深度（厚度）
Da	道尔顿
DAC	数字信号-模拟信号转换器
dc	直流电
DDS	直接数字合成器
DEP™	直接曝光探头™
DS	数据系统
DSP	数字信号处理器

EI	电子电离
EMBL	欧洲分子生物学实验室
<Enter>	键盘上的回车键
ESD	静电放电
ESI	电喷雾电离
eV	电子伏特
f	飞，毫微微(10^{-15})
°F	华氏度
.*fasta* file	SEQUEST数据库检索文件扩展名
FOB	离岸价格
ft	英尺
FTP	文件传送（输）协议
g	克
G	十亿，千兆 (10^9)
GC	气相色谱仪，气相色谱法
GC/MS	气相色谱/质谱联用
GND	接地
GPIB	通用接口总线
GUI	图形用户界面
h	小时
h	高度
HPLC	高效液相色谱
HV	高电压
Hz	赫兹
ICIS™	交互化学信息系统
ICL™	仪器控制语言™
ID	内径
IEC	国际电工技术委员会
IEEE	电气和电子工程师协会
in.	英寸
I/O	输入/输出
k	千(10^3, 1000)
K	千 (2^{10}, 1024)
KEGG	京都基因和基因组百科全书
Kg	公斤/千克

l	长度
L	升
LAN	局域网
lb	磅
LC	液相色谱仪，液相色谱法
LC/MS	液相色谱/质谱联用
LED	发光二极管
µ	微(10^{-6})
M	米
m	毫(10^{-3})
M	兆(10^{6})
M+	分子离子
MB	兆字节(1048576字节)
MH+	质子化分子离子
min	分钟
mL	毫升
mm	毫米
MS	质谱仪，质谱法
MS	串联质谱MS_n：n = 1
MS/MS	二级串联质谱 MS_n：n = 2
MS_n	多级串联质谱 MS_n：n = 1到10
m/z	质荷比
n	纳(10^{-9})
NCBI	（美国）国家生物技术信息中心
NIST	（美国）国家标准技术研究所
OD	外径
Ω	欧姆
p	皮可(10^{-12})
Pa	帕斯卡
PCB	印刷电路板
PID	比例/积分/微分
P/N	部件号码
P/P	峰峰电压

ppm	百万分之
psig	磅/平方英寸，表压
RAM	随机存取存储器
RF	射频
RMS	均方根
ROM	只读存储器
RS-232	串行通讯工业标准
s	秒
SIM	选择离子监测
solids probe	直接嵌入式探头
SRM	选择反应监测
SSQ®	单级四极杆®
TCP/IP	传输控制协议/网间（际）协议
TIC	总离子流
Torr	托
TSQ®	三级四极杆®
u	原子质量单位
URL	统一资源定位符
V	伏特
Vac	交流电压
Vdc	直流电压
vol	体积
w	宽度
W	瓦特
WWW	万维网，全球网络系统

注意：指数写成上标的形式。由于设计的约束，在相应的在线帮助文件中指数有时写成插入记号(^) 或者使用自然记数法（*e*），例如：

MS_n (本手册中) MS^n (在线帮助中)

10^5 (本手册中) 10^5 (在线帮助中)

排版约定

热电公司的手册手册使用如下排版约定：

- 数据输入
- 提示框信息
- 标题

数据输入

本手册中，如下约定表示通过计算机输入输出数据：

- 屏幕上显示的信息每个单词的首字母大写表示，并且单词为斜体的。
- 用户通过键盘输入的信息以**加粗字母**表示(标题、章节和手册均用加粗字母表示)。
- 为了简练，一些如“choose **File > Directories**”的表达式表示“打开File(文件)菜单选择Directories(目录)”。
- 尖括号中的任何命令表示单次击键。例如“press <F1>”表示按下F1键。
- 任何需要同时按下两个或者两个以上键的命令表示为键与键之间用加号（+）连接。例如“press <Shift> + <F1>”表示按住<Shift>键然后按下<F1>键。
- 需要在屏幕上点击的按钮使用粗体字母和不同字体表示。例如，“click on **Close**”表示“点击**Close**”按钮。

提示框信息

对于一些非常重要的，但不是正文的信息，以提示框的形式出现，如下例。

注意：这样的提示框用来显示一些重要的信息。

提示框信息有如下几种类型：

- **注意**－可能影响数据质量的信息。此外，注意经常包含一些在您遇到问题时可能需要的信息。
- **技巧**－可以使任务简化的信息。
- **重要**－有可能影响数据质量的关键信息。
- **小心**－保护仪器不受损害的必要的信息。
- **警告**－对人体有危害。每个**警告**都带有一个警告标志。每份硬件手册都有一张蓝色的警告清单列出警告标志及其含义。
- **危险**－与激光有关的对人体有危害的情况。包括有关激光的详细分级信息。每个危险提示都带有国际激光辐射标志。

标题

下面的标题用来表示一章中标题的组织结构：

第**1**章
章节名称

1.2 二级标题

三级标题

四级标题

五级标题

反馈卡片

热电公司的手册都带有一种或两种反馈卡片。所有手册都有客户注册/读者调查卡，还有些手册有一张变更地址卡片。这些卡片在每本手册的前面可以找到。

客户注册/读者调查卡有两个功能：一是当用户寄回卡片，就会列入热电公司的邮件发送清单中，作为清单中的一员，用户可以得到您感兴趣的领域的应用报告和技术报告，并且会得到一些您所感兴趣的通报，比如客户会议。二是您可以告知我们您对手册的意见。

变更地址卡片可以让我们及时跟踪仪器的所在地。如果仪器在您公司内部的安装地点发生变动或者售出，请填写变更地址卡，因为，有时我们需要通知仪器的所有者关于安全或者其它一些问题。

第1章
简　　介

TSQ Quantum Discovery MAX™是Finnigan™质谱仪TSQ®家族中的一员。TSQ Quantum Discovery MAX是一种高性能三级四极杆质谱仪，包括一台注射泵、一个转向/进样阀、一个大气压电离(API)源和Xcalibur®数据系统。在一个典型的分析实验中，可以采取下面任意一种进样方法：

- 使用注射泵，不经过转向/进样阀或者LC系统（直接进样）。注射泵可以直接连接至离子源，为样品溶液或调谐校准溶液提供一个稳定的进样状态。
- 使用注射泵和LC系统（直接注射至LC流动相），不经过转向/进样阀。注射泵可以用于直接向LC系统出来的流动相中注射样品。
- 使用安装有回路的进样阀及LC系统(流动注射分析)。可用注射泵填充回路(定量环进样)，或者也可以手动填充回路(手动定量环进样)。
- 使用转向阀和安装有分析柱的LC系统。可以对数据系统进行配置，使流动相流向废液，以避免由于带有不希望有的样品物质对质谱仪造成的不必要的沾污。
- 使用不带转向/进样阀的LC系统。为减少LC系统的空体积，LC系统可以直接连接至离子源。

使用LC/MS进行分析时，样品注射至LC柱，然后分离成不同的组分。不同组分从LC柱流出，进入质谱仪进行分析。使用直接注射或者流动注射分析时，在样品进入质谱仪前，样品组分没有经过色谱分离。随后从质谱仪得到的数据被Xcalibur系统存储并处理。

简介部分回答下列问题：

- ESI或APCI哪个更适合分析用户的样品
- 如何将样品引入质谱仪
- 应使用何种缓冲溶液
- 不同液相色谱流速下如何设置质谱工作参数

1.1 ESI或APCI哪个更适合分析用户的样品

用户可以在如下两种大气压电离模式下操作质谱仪：

- 电喷雾电离(ESI)
- 大气压化学电离 (APCI)

通常，极性化合物，如胺、肽和蛋白质最好使用ESI进行分析；非极性化合物如类固醇最好使用APCI.进行分析。

样品离子可能携带一个或者多个电荷，样品所携带电荷的数量取决于目标分析物的结构、流动相和电离模式。

使用 ESI/MS

ESI模式通常产生由单电荷离子组成的质谱图，但是还要取决于被分析物的结构和溶剂类型。当产生多电荷离子时，质谱谱图结果会被进行数学转换而表示为样品的分子量。

ESI模式将溶液内的离子转换成气态。许多此前并不适合质谱分析的样品(例如，热稳定性差的化合物或者高分子量的化合物)可以通过ESI模式进行分析。ESI可用于分析任意在溶液中已经预成离子的极性化合物，预形成的离子可以包括加合离子。例如聚乙二醇可以在有醋酸铵存在的溶液中被分析出来，因为，NH_4离子和聚合物中的氧原子可以形成加合离子的形式。由于多次放电，使用ESI，TSQ Quantum Discovery MAX质谱仪可以分析分子量超过100,000 u的化合物。ESI特别适用极性化合物的质谱分析，包括生物聚合物(例如，蛋白质，肽，糖蛋白类和核苷)、药物及其代谢物和工业聚合物。

用户可以在阴阳两种离子极性模式下使用ESI模式。离子的极性模式取决于溶液中预形成离子的极性：酸性分子在高pH值溶液中形成负离子，碱性分子在低pH值溶液中形成正离子。正放电ESI探针用来产生正离子，负放电ESI探针用来产生负离子。

LC流动相流入质谱仪的流速可以从小于1 μL/min (使用纳升喷雾离子源)到1000 μL/min (使用标准ESI源)。请参考1-7页的表1-2。(在ESI中，缓冲溶液类型和缓冲溶液强度对灵敏度都有非常显著的影响。因此，正确地选择缓冲溶液非常重要)。

在分析大分子量的蛋白质或肽时，由于多电荷被测离子的存在，所以所得到的质谱图通常由一系列峰组成

ESI过程受雾滴尺寸、表面电荷、液体表面张力、溶剂挥发性和离子溶解强度的影响。具有较大表面张力、低挥发能力、较强的离子溶解强度、低表面电荷数和高电导率的大雾滴会阻碍产生良好的电喷雾。

混合有机物-水溶剂体系，包括有机溶剂，如甲醇、乙腈和异丙醇比单独的水溶液更适合ESI。挥发性酸碱也非常适合ESI，但是不推荐使用超过10 mM的盐溶液。强无机酸碱会严重损害仪器。

要获得稳定的电喷雾可参考如下建议：

- 溶剂体系避免使用不挥发性盐和缓冲剂。例如，避免使用含有钠盐和钾盐，避免使用磷酸盐。若确实需要可以铵盐代替。
- 使用有机物-水溶剂体系。
- 使用挥发性酸碱。
- 如有可能，优化目标被测物溶剂体系的pH值。例如，被测物含有一价或二价铵离子，那么流动相应该为酸性(pH 2到5)。pH为酸性有助于溶液中正离子的存在。

使用**APCI/MS**

就像ESI，APCI也是一种软电离技术，与电子电离相反。APCI可以给出低极性和稍具挥发性的化合物的分子量信息。APCI通常用于分析最高分子量约为1000 u的小分子。

APCI是一种气相电离技术。因此，被分析物和溶剂蒸气的酸碱度在APCI分析过程中起着至关重要的作用。

在APCI模式下，LC系统流入质谱仪的流动相的流速范围为0.2到2 mL/min。. 请参考1-7页的表1-3。

用户可以在阴阳两种离子极性模式下使用APCI。在正离子模式下，带有碱基的分子会产生强的离子流。带有酸性基团的分子，如羧酸和酸式醇，在负离子模式下可产生强的离子流。尽管如此，负离子极性模式是比较特殊的，通常产生的负离子数量比正离子的数量要少一些。因为，负离子极性模式通常产生的化学噪音比正离子模式要小。因此，在负离子模式下的信噪比要比正离子模式下的好。

1.2 如何将样品引入质谱仪

用户可以采用不同的途径将样品引入质谱仪，参见表1-1。

表1-1.　　将样品引入质谱仪的技术

	样品进样技术	分析技术	参考图例
直接进样	直接进样(使用注射泵)*	ESI自动调整校准 ESI或APCI分析溶液中的纯的被测物	图3-1
LC流动相不经过色谱分离	定量环进样到LC流动相 (使用注射泵)	ESI或APCI使用待测化合物自动优化 ESI或APCI分析溶液中的纯的被测物	图4-1 (ESI) 图7-1 (APCI)
	手动定量环进样至LC流动相	ESI或APCI使用待测分析物自动优化 ESI或APCI分析溶液中的纯的被测物	图5-1 (ESI) 图8-1 (APCI)
	注射至LC流动相 (使用注射泵)*	ESI或APCI分析溶液中的纯的被测物	开始连接**Finnigan TSQ Quantum Discovery MAX**中的连接**TSQ Quantum Discovery MAX**管路以进行样品分析章节
	自动进样器注射至LC流动相	ESI或APCI分析一种或多种溶液	
LC流动相经过色谱分离	经LC流动相自动进样器注射到色谱柱	ESI或APCI分析一种或多种混合物	

* 可将样品稳定地引入质谱仪。

> 注意：要获得详细的离子源/进样器互换组合的管路图，可参考开始连接**Finnigan TSQ Quantum Discovery MAX**中的连接**TSQ Quantum Discovery MAX**管路以进行样品分析章节

小心：高浓度的化合物优化溶液，如利血平试样溶液，可能沾污系统。因此，向质谱仪引入化合物优化溶液推荐使用定量环进样至LC流动相的方法。

注射泵经常用于在ESI模式下自动调谐和调谐校准时引入调谐校准溶液。用户也可以在ESI模式下使用该方法以稳定的流速向系统中引入纯的被测物溶液。

用户可以使用T形连接管将样品从注射泵中引入LC流动相（无论是否安装有色谱柱），然后样品随流动相进入质谱仪。这种方法用于需要进样流速稳定和流动相流速很高的情况下。特别适用于在ESI或APCI模式下校准目标分析物。该项方法也可以用于在ESI或APCI模式下引入纯的被测物溶液。

用户可以使用注射器将样品引入转化阀上的定量环中。然后使用转换阀将样品引入流动相中，一起流入质谱仪。这种技术在ESI和APCI模式下将纯分析物集中快速引入质谱仪中。以注射器将样品引入转化阀上的定量环中，这种进样方法在纯品数量非常少量的情况下是非常有用的。

用户也可使用LC自动进样器向LC流动相中引入样品。该方法也用于在ESI或APCI模式下快速集中的向质谱仪引入纯的被测物溶液。

最后，用户可以使用液相自动进样器将混合样品引入到液相色谱柱中。在ESI或者APCI模式下，这种技术可以将被分析混合物在进入质谱仪前得以分离，被分离化合物按顺序进入质谱仪。

请参见本手册的后续章节，并且可在**开始联接Finnigan TSQ Quantum Discovery MAX**一节中看到不同进样方法的管路连接图。

1.3 使用何种缓冲溶液

推荐使用挥发性缓冲溶液，这样可能会得到最好分析结果。许多挥发性缓冲溶液都可代替不挥发性缓冲溶液。挥发性缓冲溶液包括以下几种：

- 醋酸
- 醋酸铵
- 甲酸铵
- 氢氧化铵
- 三乙胺(TEA)
- 三氟乙酸(TFA)

有些LC应用中使用不挥发性缓冲溶液，如磷酸盐或硼酸盐缓冲溶液。然而，使用不挥发性缓冲溶液可能造成离子源结盐，进而导致灵敏度降低。

对LC应用而言，使用不挥发性缓冲溶液时，要想得到最佳结果，请遵从如下原则：

- 安装离子吹扫锥可选配件。
- 将缓冲溶液的浓度降至最低。

> **注意：**使用不挥发性缓冲溶液会提高离子源的维护频率。

1.4 不同液相色谱流速下如何设置质谱工作参数

ESI探头可以在流动相流速为1 µL/min到1.0 mL/min的情况下产生离子。这样的流速范围可以采用不同的分离技术：毛细管柱LC、微分离柱LC和分析柱LC。我们还提供一种可选配件——纳升喷雾离子源，适用于在ESI模式下进行次微分析。

APCI探头可以在流动相流速低至50 µL/min的情况下产生离子，但是通常流速范围为0.2到2.0 mL/min。在这样的流速范围内可以采用如下分离技术：微分离柱LC、分析LC和半制备LC。

当用户改变了进入质谱仪的流相流速时，需要调节如下质谱仪参数：

- 对于ESI，需要调节离子传输管温度和鞘气、辅助气流速。
- 对于APCI，需要调节离子传输管和雾化器温度，还要调节鞘气和辅助气流速。

通常，流入质谱仪的液体的速度越高，离子传输管(雾化器)的温度就越高，并且气体流速也就越高。

表1-2给出了在ESI操作模式下，不同LC流动相流速的情况下设定离子传输导管温度和气体流速的指导原则。表1-3给出了在APCI操作模式下，设定离子传输导管和雾化器的温度以及气体流速的指导原则。

表1-2. LC/ESI/MS设置操作参数指导原则 (喷雾电压3到4.5 kV)

LC流动相流速 (µL/min)	**建议色谱柱内径 (mm)**	**毛细管温度 (°C)**	**鞘气 (psi)**	**辅助气 (任意单位)**
≤10	毛细管	200到250	5到30	关闭
50到100	1.0	250到300	10到30	5到10
200到400	2.1到4.6	300到350	20到40	10到20
≥400	4.6	350	30到60	10到40

表1-3. LC/APCI/MS操作参数设定指导原则 (电晕放电4 µA)

LC流动相流速 (mL/min)	**毛细管温度 (°C)**	**雾化器温度 (°C)**	**鞘气(psi)**	**辅助气 (任意单位)**
0.2到2.0	200到350	400到600	30到40	0到5

第2章 设置离子源参数以调谐和校准质谱仪

本章主要介绍调谐和校准TSQ Quantum Discovery MAX质谱仪时所需硬件的设置。无论是在ESI或者APCI模式下采集数据之前，用户均要在ESI模式下对质谱仪进行调谐校准。

本章包括以下几个部分：

- 将LC/MS系统设置为待机状态
- 拆卸APCI探头
- 拆卸Ion Max离子源外壳(可选配件)
- 安装离子吹扫锥 (可选配件)
- 安装Ion Max离子源外壳
- 安装ESI探头

2.1 将LC/MS系统设置为待机状态

在拆卸离子源之前，必须将LC/MS系统设置为待机状态。请按如下步骤将LC/MS系统设置为待机状态：

1. 如果需要，关闭API源的流动相：

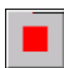
   a. 如果Xcalibur没有打开，在Windows®任务栏中选择**Start(开始) > Programs (程序) > Xcalibur > Xcalibur**打开Xcalibur窗口。

   b. 在Xcalibur主窗口（—路线图视图中home page window-roadmap view），选择**GoTo (转向) > Instrument Setup (仪器设置)**打开仪器设置窗口。

   c. 在仪器设置窗口中查看工具条上点击Surveyor®质谱泵按钮显示Surveyor 质谱泵视图。

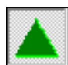
   d. 选择**Surveyor MS Pump (Surveyor 质谱泵) > Direct Control (直接控制)**打开直接控制对话框。

   e. 在直接控制对话框中，在工具栏上点击停止按钮，停止LC泵。

2. 如果没有打开Tune Master，在任务栏上选择**Start (开始) > Programs (程序) > Xcalibur > Quantum Tune** 打开Tune Master。

3. 通过观察控制/扫描模式工具栏上的开机/待机按钮，来确定质谱仪的状态。 (左边图片显示了开机/待机按钮的三种不同状态。)


开机


关闭


待机

如果质谱仪的状态为开启，则点击开机/待机按钮将质谱仪设置为待机状态。如果质谱仪已经进入待机状态，则系统已经关闭离子源鞘气，辅助气和高压，参见图2-1。

LC/MS系统现在已经进入待机状态，可以安全地拆卸离子源。请进入下一部分：**拆卸APCI探头**。

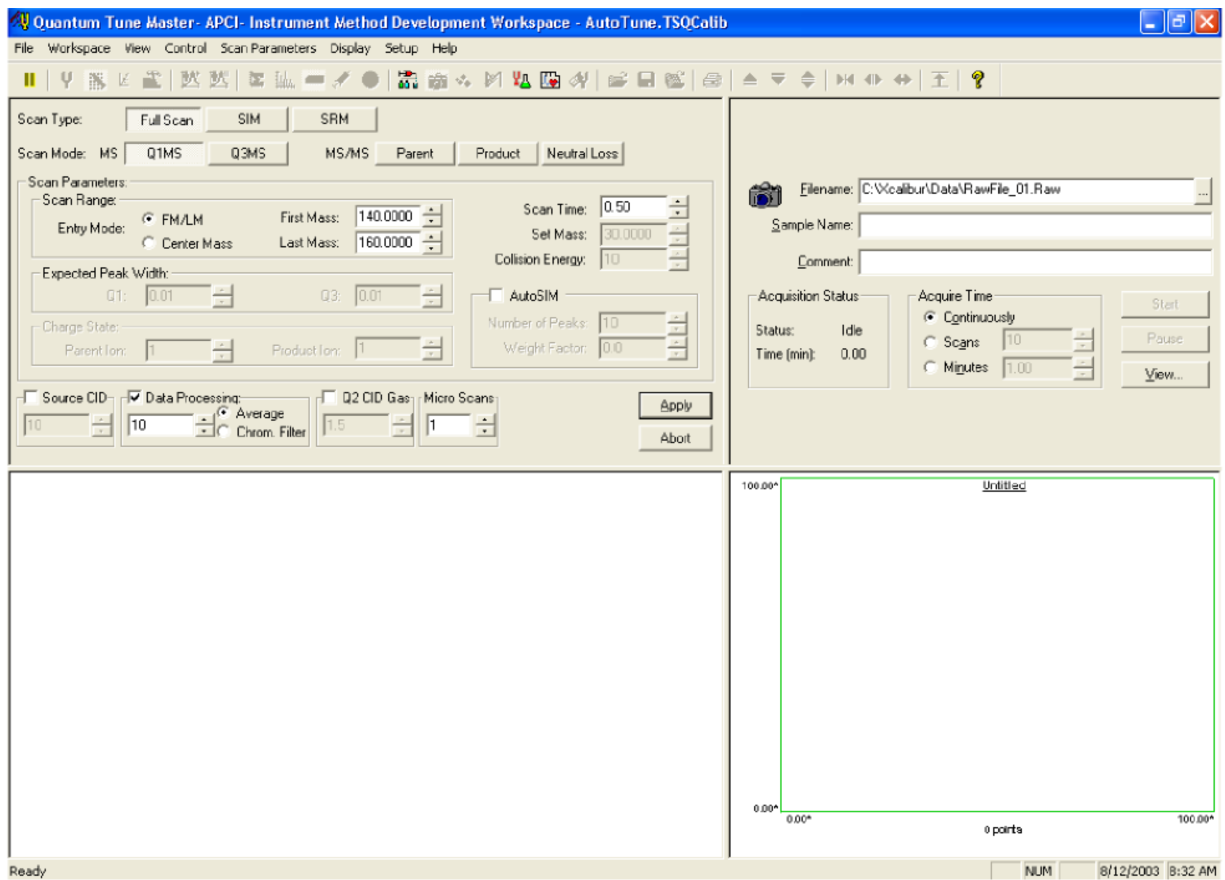


图**2-1. Tune Master**窗口—仪器方法建立工作区，显示质谱仪现在为待机模式

2.2 拆卸APCI探头

本部分讲述如何拆卸APCI探头。

按如下步骤拆卸APCI探头：

1. 拔去与APCI探头上的雾化器加热器电缆插座相连的雾化器加热器电缆。见图2-2。

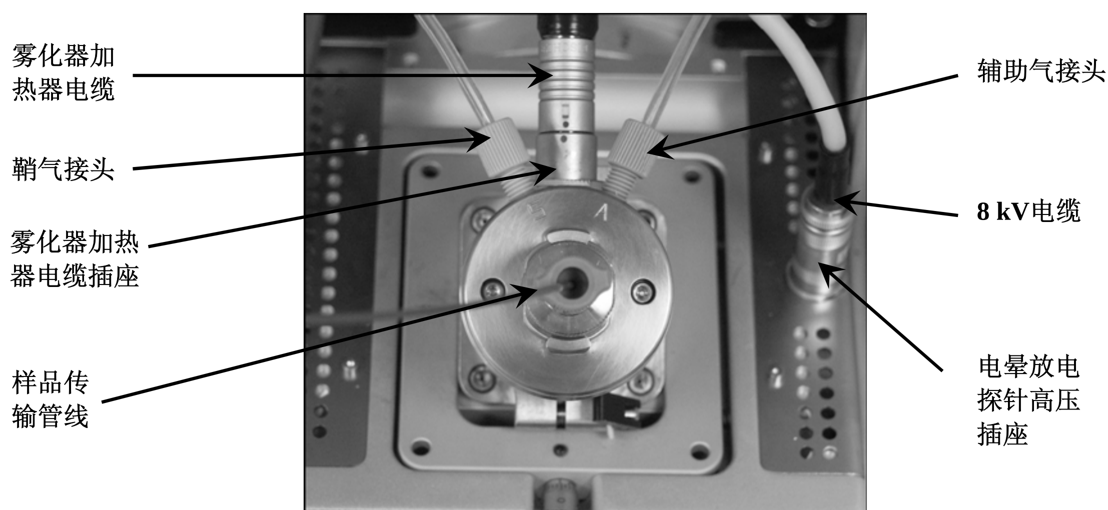


图2-2. 安装有APCI探头的Ion Max离子源

2. 将雾化器加热器电缆连接至离子源外壳上的ESI联锁插座，见图2-3。

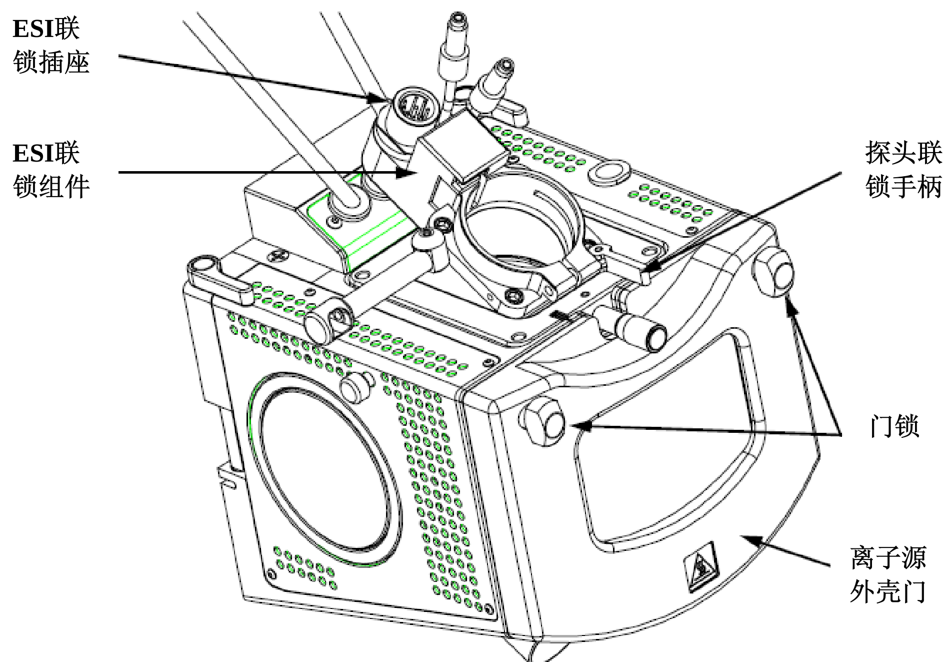


图2-3. Ion Max离子源，详细构造

3. 断开APCI探头上样品传输管线的连接。 (见图2-2。)
4. 从APCI探头上拆除辅助气管线(绿色接头，Figure 2-2)。
5. 从APCI探头上拆除鞘气管线 (蓝色接头)。



警告：避免烫伤。在运行温度下，APCI雾化器可能严重地烫伤人体!APCI雾化器通常的工作温度为400到600 °C。**在触摸或者拆卸组件之前，一定要将雾化器冷却至室温(大约需要20分钟)。**

6. 拆卸APCI探头：

a. 将在外壳内的探头端口小心地向后拉，直到碰到ESI联锁组件的插槽(图2-3)。探针复式接头的导向销可避免扭弯探针，并保证针脚与ESI联锁组件的插槽对齐。将探头全部拨出并与插槽对齐之后，按逆时针方向转动探头，将探头从定位凹槽中取出。一定要小心，以免损坏熔融石英样品管或者PEEK(聚醚醚酮)安全封套。

b. 直拉探头，将探头从离子源外壳取出。

c. 将APCI探头保存在原来的包装盒内。

7. 将8 kV电缆从电晕放电探针高压插座上拆除：

a. 逆时针旋转锁环，松开电缆。

b. 将8 kV电缆从电晕放电探针高压插座上拆除。



警告：避免受伤。电晕放电探针非常尖利，可能刺穿皮肤，拿时请小心。

8. 拆卸电晕放电探针：

a. 将离子源外壳门锁转动90度，使门锁手柄水平，打开外壳门。

b. 打开离子源外壳门。

c. 用钳子夹住探针镀金接头部分，直拉，将探针从插座上拨出。见图2-4。

d. 关闭并锁好离子源外壳门。

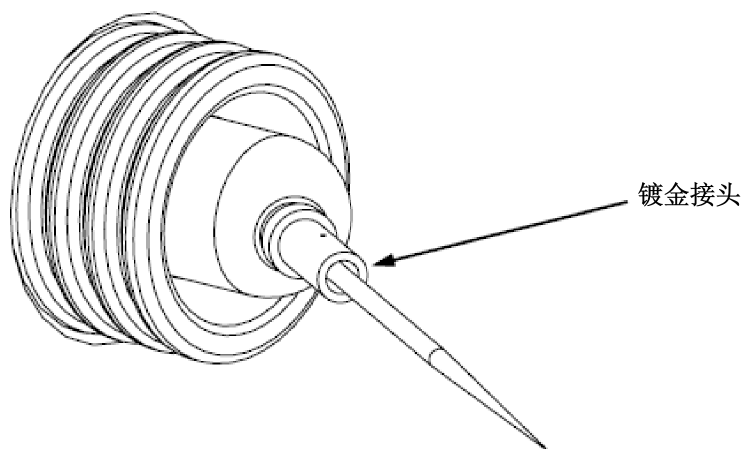


图2-4. 电晕放电探针，后视图

9. 将APCI探头保存在原来的包装盒内。

如果需要安装离子吹扫锥可选配件，请转向下一部分：**拆卸Ion Max 离子源外壳。**

如果不安装离子吹扫锥，转向2-14页：**安装ESI探头**部分。

2.3 拆卸Ion Max离子源外壳

要安装/拆卸离子吹扫锥，需要拆除离子源外壳。

> **注意：**如果离子源探头仍安装在离子源外壳中，在拆除离子源外壳前首先应该断开外部的液体管线连接。

按如下步骤拆卸离子源外壳：

1. 从离子源外壳的废液出口上将废液管拆除。见图2-5。
2. 将离子源外壳上的联锁手柄旋转90度，打开离子源装配组件上的离子源外壳。
3. 直拉离子源装配组件上的离子源外壳，将其拆除。然后，将离子源外壳暂时放在比较安全的地方。

转向下一部分：**安装**离子吹扫锥**.**

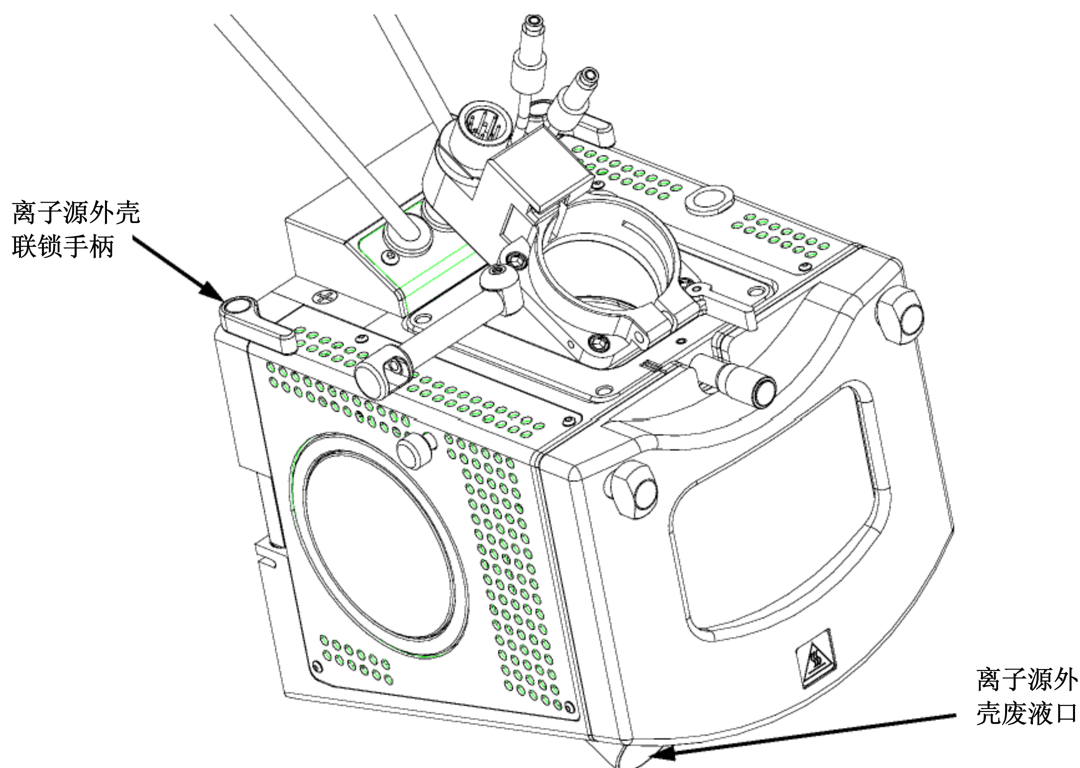


图2-5. Ion Max离子源，详细构造

2.4 安装离子吹扫锥

离子吹扫锥在样品气流和离子传输导管之间起着物理屏障的作用。这道屏障有助于保护离子通道入口免受污染。结果是在不损失信号强度的情况下，多数样品分析的灵敏度会有显著提高。此外，保持离子导管入口的清洁，以减少离子源的维护需求。



警告：避免烫伤。在运行温度下，离子传输导管可能严重地烫伤人体!离子传输导管的工作温度通常为200到400 °C。**在安装**离子吹扫锥**之前，一定要将离子传输导管冷却至室温(大约需要20分钟)。**一定要注意，当离子传输导管暴露在空气中时，不要触摸其端部。

按下列步骤安装离子吹扫锥：

将离子吹扫锥从包装盒中取出，检查是否需要清洗。

注意吹扫气连接口在API锥体密封处的位置。离子吹扫锥上的气体入口应安装在此接口中。见图2-6和图2-7。

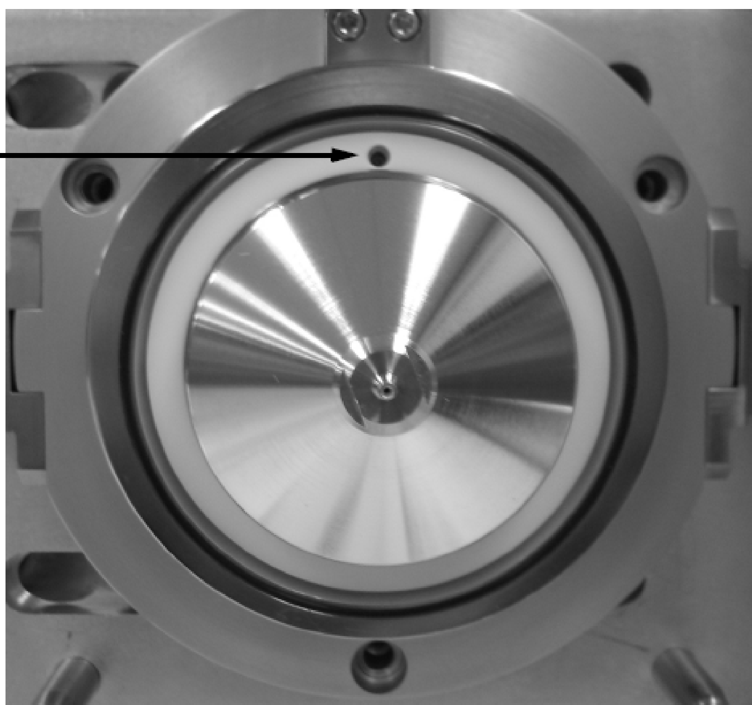


图2-6. 毛细管加热器罩，图中显示的是在**API**锥体密封处的吹扫气接口

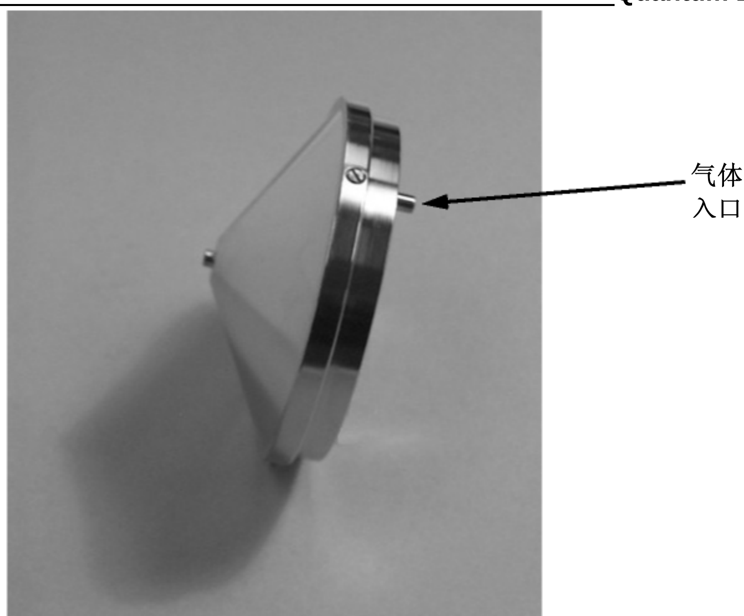


图2-7. 离子吹扫锥，图中显示的是气体入口



警告：避免烫伤。在运行温度下，离子传输导管可能严重地烫伤人体!离子传输导管的工作温度通常为200到400└。**在安装离子吹扫锥之前，一定要将离子传输导管冷却至室温(大约需要20分钟)。**一定要注意，当离子传输导管暴露在空气中时，不要触摸其端部。

3. 在离子传输导管冷却至室温之后，小心地将离子吹扫锥上的气体入口与离子源组件上的吹扫气接口对齐。用力将离子吹扫锥压到位。

现在离子吹扫锥已经正确地安装到质谱仪上。转到下一部分：安装**Ion Max离子源外壳。**

2.5 安装Ion Max离子源外壳

本部分介绍如何安装质谱仪的Ion Max离子源外壳。

按下列步骤重新安装Ion Max离子源外壳：

1. 仔细将离子源外壳背面的两个导向针孔与质谱仪离子源外壳上的导向针对齐，然后小心按压，将离子源外壳安装到离子源组件上。见图2-8和图2-9。

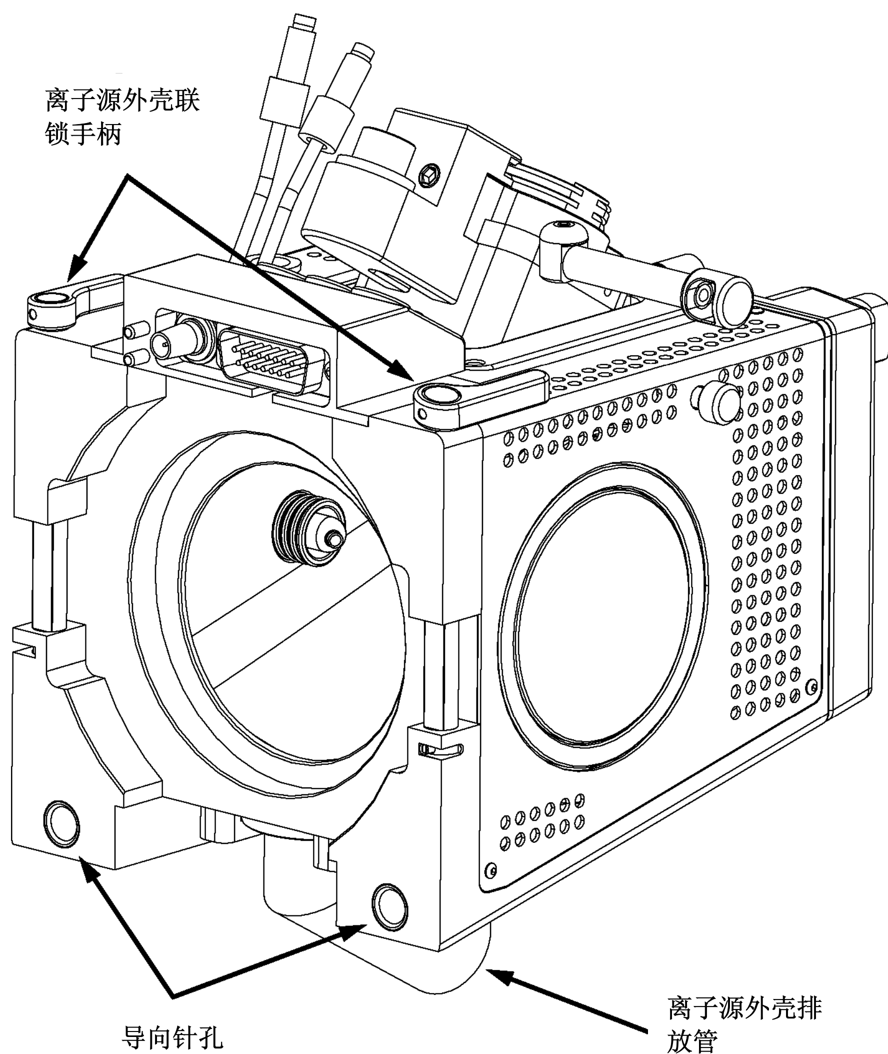


图2-8. Ion Max离子源外壳后视图

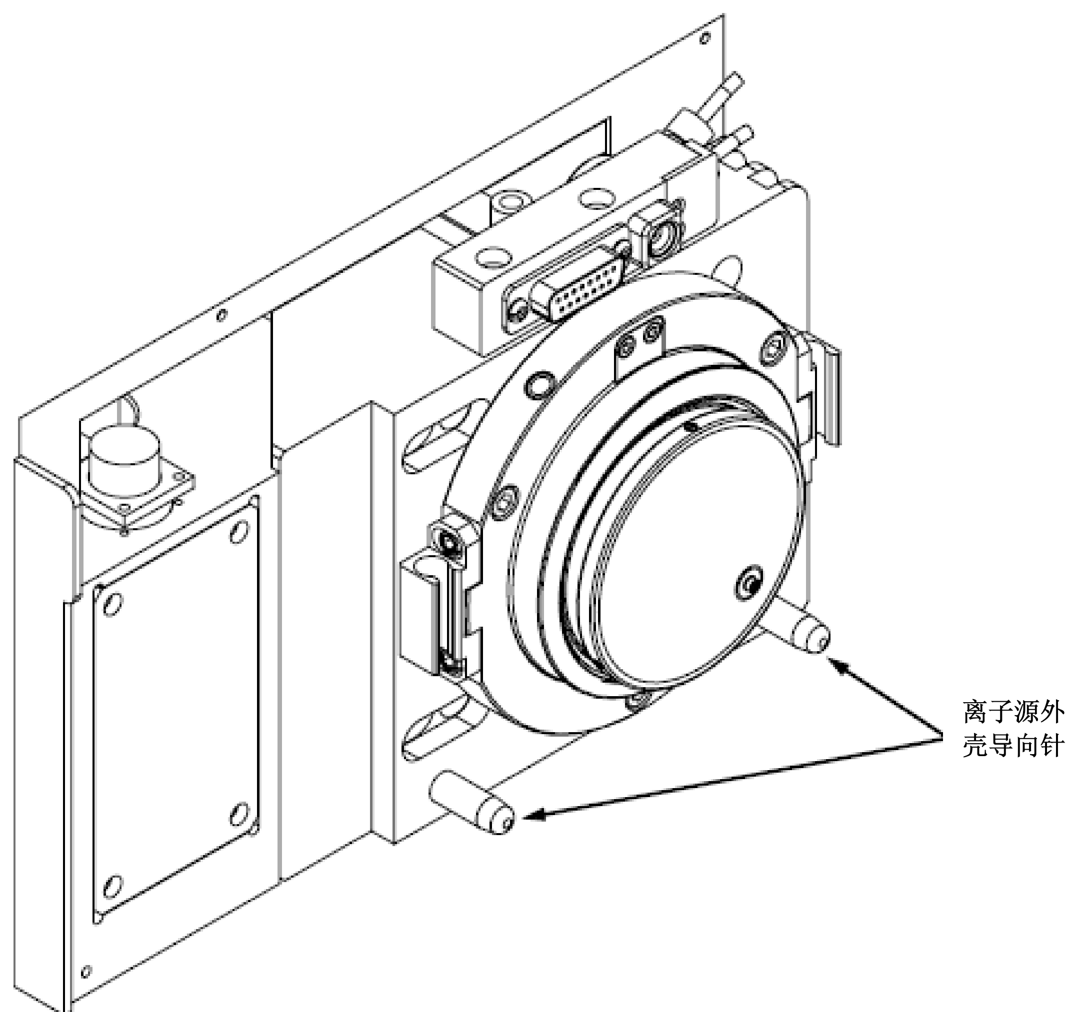


图**2-9.** 离子源组件，图中显示了离子源外壳导向针

2. 将离子源外壳联锁手柄旋转90度，将离子源外壳锁在离子源组件上。

> **小心**：防止溶剂废液回流到离子源和质谱仪。一定要确保废液管中的液体可以排放到废液容器中。

3. 重新安装离子源废液管：

> **小心**：不要将API源废液管(或者连接到废液容器的其它排放管)排放到与前置真空泵/预抽真空泵相同的通风系统中，如果API源的废液管与前置真空泵/预抽真空泵的排放管(蓝色)连接到同一通风系统，可能会污染分析仪的光学系统。
> 用户的实验室至少配备有两套以上的通风系统。前置真空泵/预抽真空泵的排放管(蓝色)应该安放于专用的通风系统中。将API源的废液管连接到废液容器。废液容器应放置于专用通风系统中。

   a. 将1英寸内径的Tygon®管(P/N 00301-22922)连接到离子源外壳废液管接头上。

   b. 将软管的另一端连接至专用排放系统。最为理想的情况是，废液系统应该排放到通风系统中。

Ion Max离子源已经正确地安装在质谱仪上。转到下一部分：**安装ESI探头。**

2.6 安装ESI探头

本部分讲述如何将ESI探头安装在离子源外壳上。按如下步骤安装ESI探头：

1. 将ESI探头从包装盒中取出，检查是否需要清洗。

> **注意：**如果ESI探头没有安装进样管(熔融石英毛细管)和安全套管，需要遵从以下步骤安装进样管和PEEK安全套管。在**Finnigan Ion Max API**源硬件手册中的**安装新的熔融石英进样管和PEEK安全套管**部分有相关描述。

2. 确保离子源外壳上的探头联锁手柄为打开状态(开至最大位置)。参见图2-10。

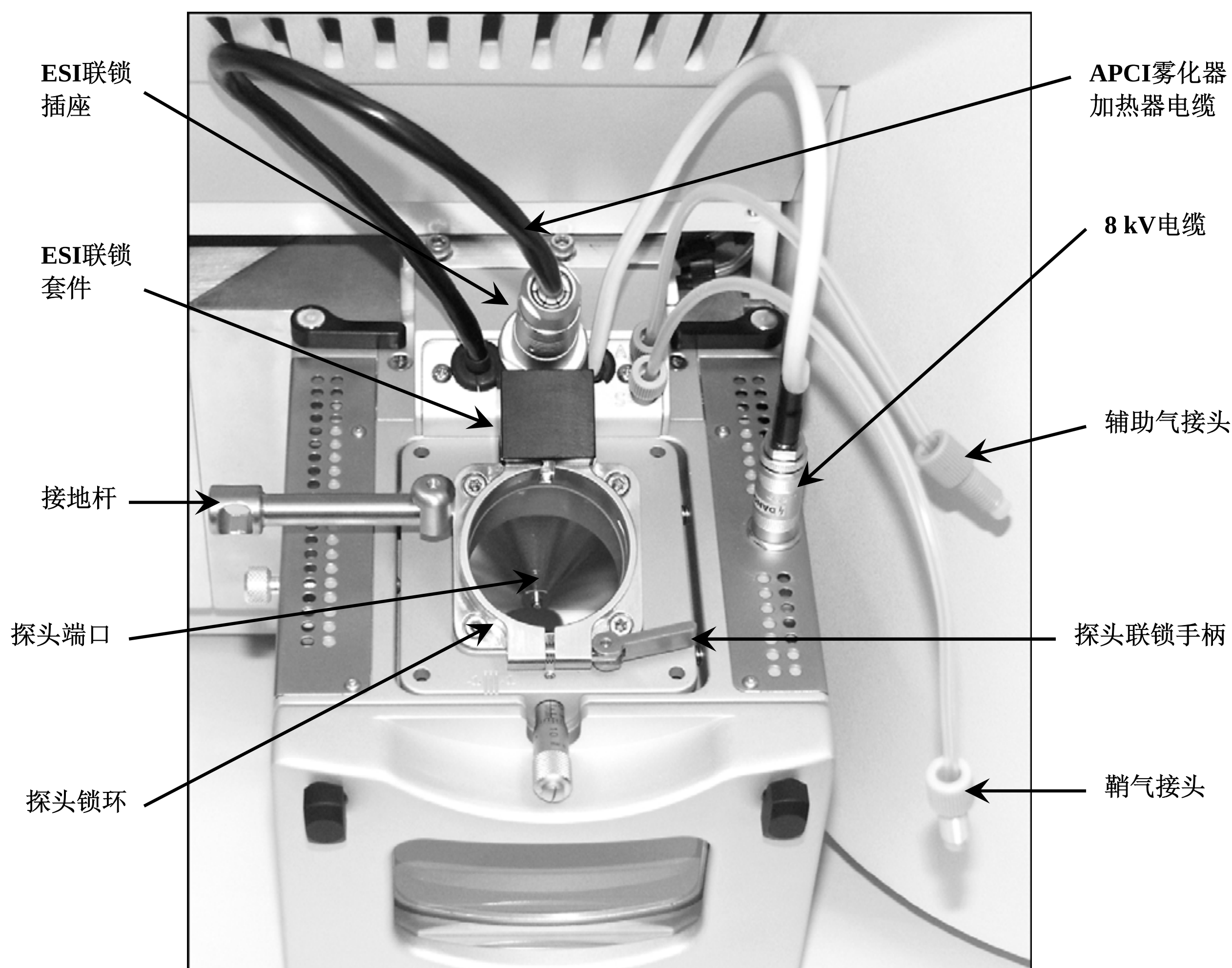


图**2-10. Ion Max**离子源外壳，探头联锁手柄开启

3．将ESI探头插入离子源外壳的端口中，对齐探头上的导向针，与ESI联锁组件成-45度角。见图2-11。

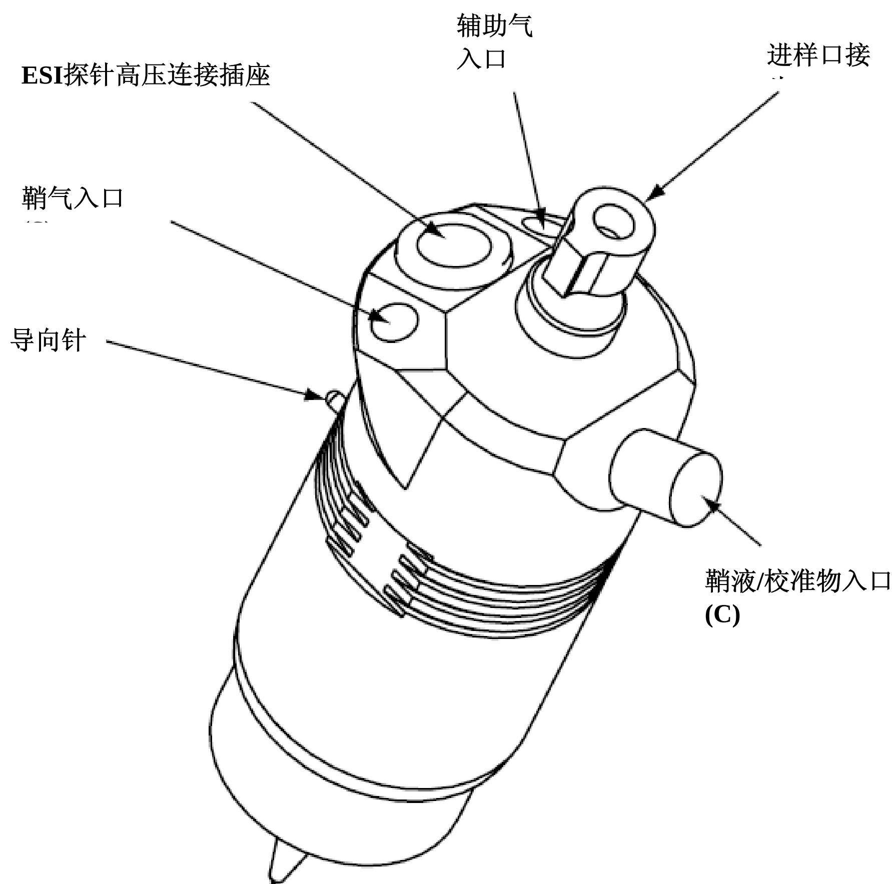


图2-11 ESI探头，侧视图

4. 当导向针与离子源外壳上的锁环相吻合时，将探头压入接口。
5. 将探头顺时针旋转45度，使导向针与ESI联锁组件上的插槽对齐(可能需要向使用者的方向轻轻拉一下，才能正确地将针脚与针孔对齐)。当探头转动到一定程度，即针脚与接口后面的对齐孔对齐后，直接按压探头，直到导向针停止于对齐孔底端。
6. 向外壳前方扳动探头联锁手柄，将探头固定住，如果向离子源外壳后方扳动手柄可能导致将来手柄难以打开。
7. 将不锈钢ZDV接头(接地接头)插入离子源外壳后的接地杆。见图2-12。

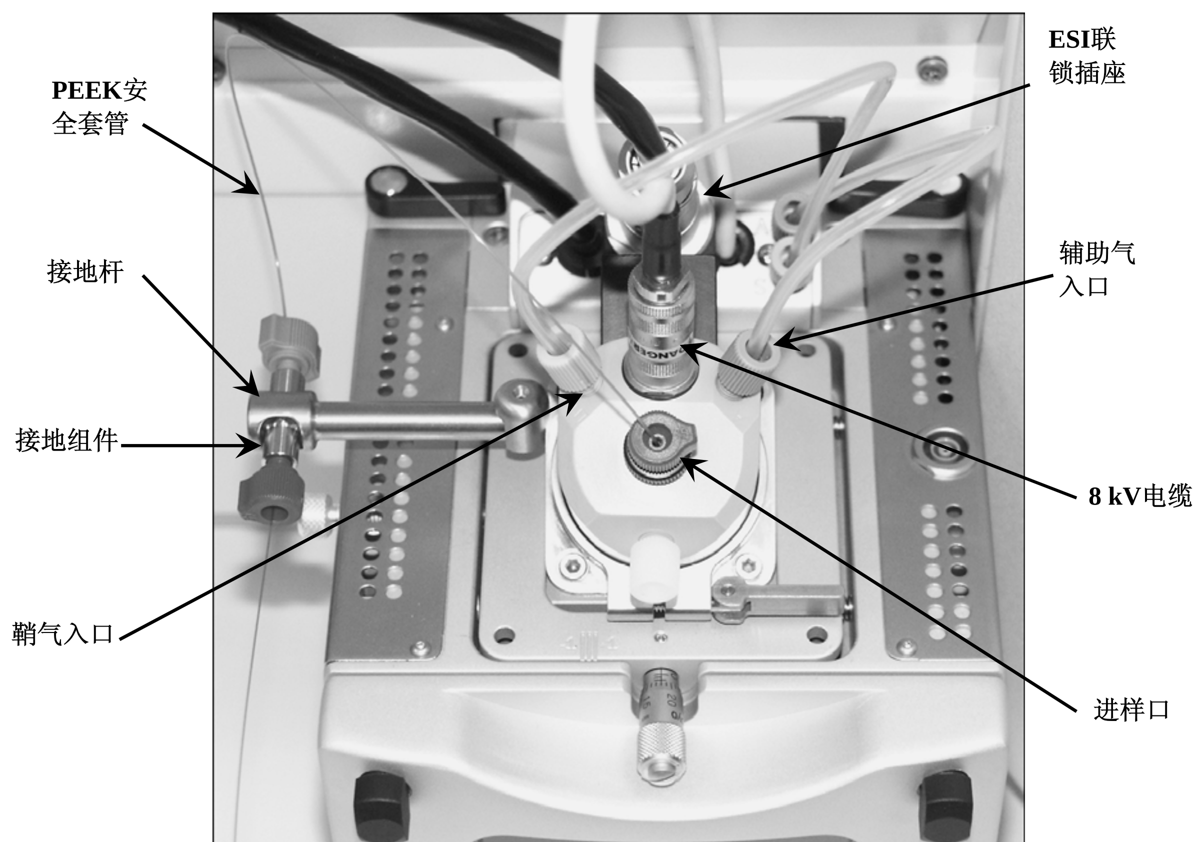


图2-12. 安装有ESI探头的Ion Max离子源外壳

8. 将鞘气接头(蓝色)连接到探头管路上的鞘气入口(S) (图2-12)。
9. 将辅助气接头(绿色)连接到探头管路上的辅助气入口(A) (图2-12)。
10. 将APCI汽化加热器电缆插入ESI联锁插座。
11. 将8 kV电缆连接到ESI探头上的ESI探针高压插座。固定好8 kV电缆连接器上的锁环。
12. 将样品传输管线连接到接地接头上。ESI源现在已经正确地安装到质谱仪上。

> **注意：**在使用ESI源进行样品分析前，需要在Tune Master中将测试模式改为ESI源模式。下次打开TSQ Quantum Discovery MAX质谱仪时，选择**Setup (设置)> Change Ion Source (更改离子源)> ESI**，将Tune Master置于ESI源模式下。

保持LC/MS系统在待机状态，然后转入下一章：**在ESI/MS/MS模式下调谐校准质谱仪**。

第3章
在ESI/MS/MS模式下调谐和校准质谱仪

本章讲述了如何调谐和校准质谱仪。这些步骤是使用调谐校准溶液进行的，溶液在低流速模式下直接引入到质谱仪中。每一到三个月需要对质谱仪进行调谐校准，以使检测器在整个质量范围内都能达到最佳检测效果。

按照本章讲述的如下步骤调谐校准质谱仪：

- 使用注射泵将低浓度的聚酪氨酸调谐校准溶液直接注射到ESI源。
- 检查调谐校准溶液喷入质谱仪的雾化效率和喷雾稳定性。可以观察到聚酪氨酸单体、三聚物和六聚物一价正离子的质荷比分别为：*m/z* ＝182，*m/z* ＝508，*m/z* ＝997。
- 开始执行自动调谐校准步骤。

本章包括以下几个部分：

- 设置直接进样法进样。
- 调谐校准的设置。
- 利用ESI源生成稳定的离子束。
- 在ESI/MS模式下的校验操作。
- 在ESI/MS/MS正离子模式下自动调谐校准。
- 在ESI/MS/MS负离子模式下自动调谐校准。
- 调谐校准后清洗系统。

3.1 设置直接进样法进样

ESI调谐校准所用的进样设备是注射泵。注射泵可以长时间将调谐校准溶液直接注射到ESI源。

注射泵位于TSQ Quantum Discovery MAX质谱仪的前面板上。图3-1显示的是从注射泵向ESI/MS引入样品的管路连接图。

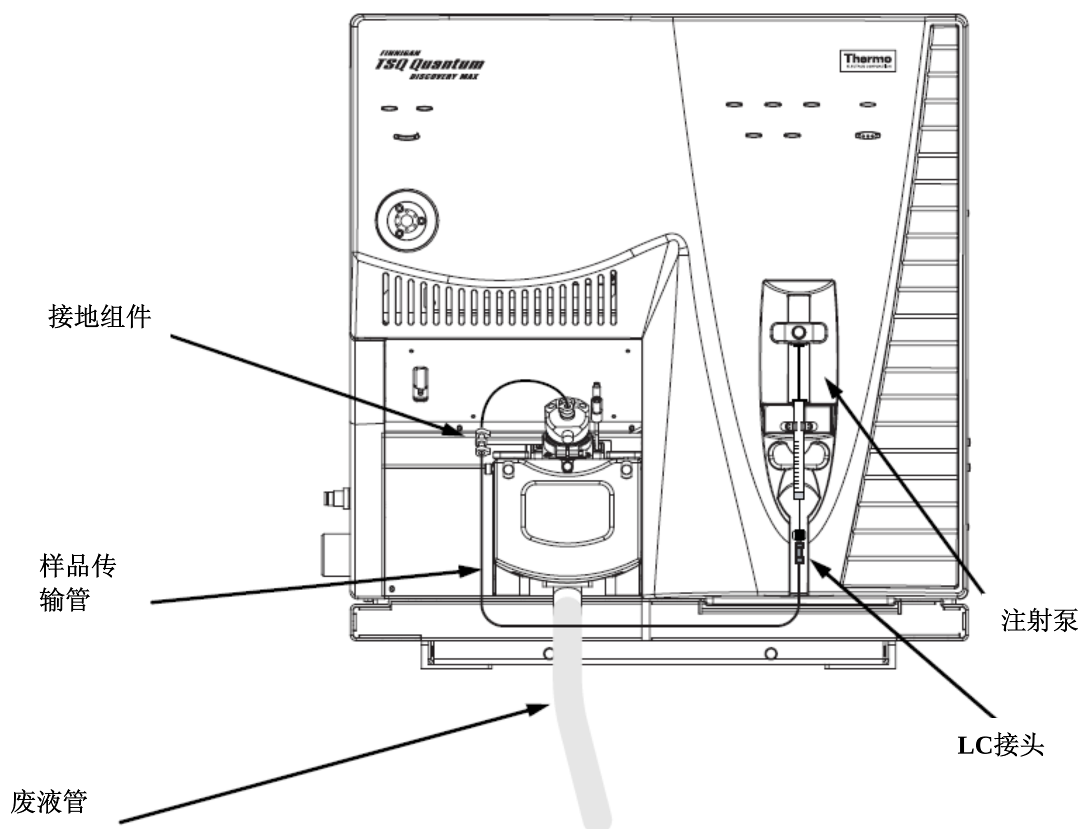


图**3-1.** 用注射泵直接引入样品的**ESI/MS**管路连接图

要引入调谐校准溶液，需要在注射泵上安装盛有调谐校准溶液的注射器。

开始此步骤之前，LC/MS必须为待机状态，如**将LC/MS系统设置为待机状态**部分所述。

按下列步骤设置注射泵，将调谐校准溶液引入ESI源：

1. 在注射器接头组件上的LC接头和离子源上的接地接头之间安装样品传输管。(图3-1)

> **注意**：为将交叉污染的可能降低到最小，调谐校准溶液、样品溶液和优化化合物溶液，请使用不同的注射器和不同的样品传输管。

2. 装上一只盛有420 μL聚酪氨酸-1，3，6调谐校准溶液的干净的500-μL Unimetrics®注射器。(参考**附录A 溶液配制**，了解调谐校准溶液准备过程。)

> **注意**：为将交叉污染的可能降低到最小，在重新将注射器插入注射器接头组件中前，一定要用不含麻的棉纸擦拭注射器的端部。

3. 把持注射器活塞部分适当的位置，仔细将注射器针头插入注射器接头组件上的Teflon®管中。见图3-2。

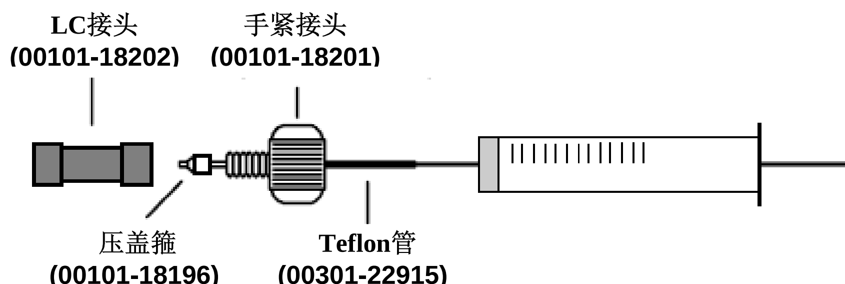


图3-2.注射器和注射器接头组件

4. 将注射器装入注射泵上的注射器夹套中。
5. 按下注射泵手柄上的黑色释放按钮的同时，将泵柄下压，直到它刚好接触到注射泵活塞。

转向下一部分：**调谐校准设置。**

3.2 调谐校准设置

为确保得到最佳的自动调谐校准效果，需要正确设置仪器。

> **注意：**下面的步骤假定用户已经对TSQ Quantum Discovery MAX仪器和Tune Master非常熟悉。如果需要其它的指导，请参考TSQ Quantum Discovery MAX在线帮助、**Finnigan TSQ Quantum Discovery MAX开始连接**或者**Finnigan TSQ Quantum Discovery MAX硬件手册。**



> **危险：**在仪器每天开始正常运行之前，确保API源有足够的氮气供应。当质谱仪处于开启状态时，如果离子源有氧气的存在，非常不安全。

按如下步骤设置质谱仪，进行调谐校准：





开机 关闭 待机

1. 在Tune Master中点击Control(控制)/Scan(扫描)模式工具栏上的On(开机)/Standby(待机)按钮，打开质谱仪(左图显示了On(开机)/Standby(待机)按钮的三种不同状态)。当打开质谱仪时，需要启动下列项目：
   - 质谱仪开始扫描。
   - 开始对ESI探头供应氮气。
   - ESI探头已加高压。
   - Tune Master显示实时谱图。
2. 在使用ESI源进行样品分析之前，一定要将Tune Master置于ESI源模式。当前离子源的模式显示在标题栏上，如图3-3所示。选择**Setup(设置) > Change Ion Source (更换离子源)> ESI**，将Tune Master置于ESI源模式下。
3. 在Control (控制)/ Scan(扫描)模式工具栏上点击Compound Optimization Workspace(化合物优化工作区域)按钮，显示Compound Optimization workspace(化合物优化工作区域) (图3-3)。



离子源模式



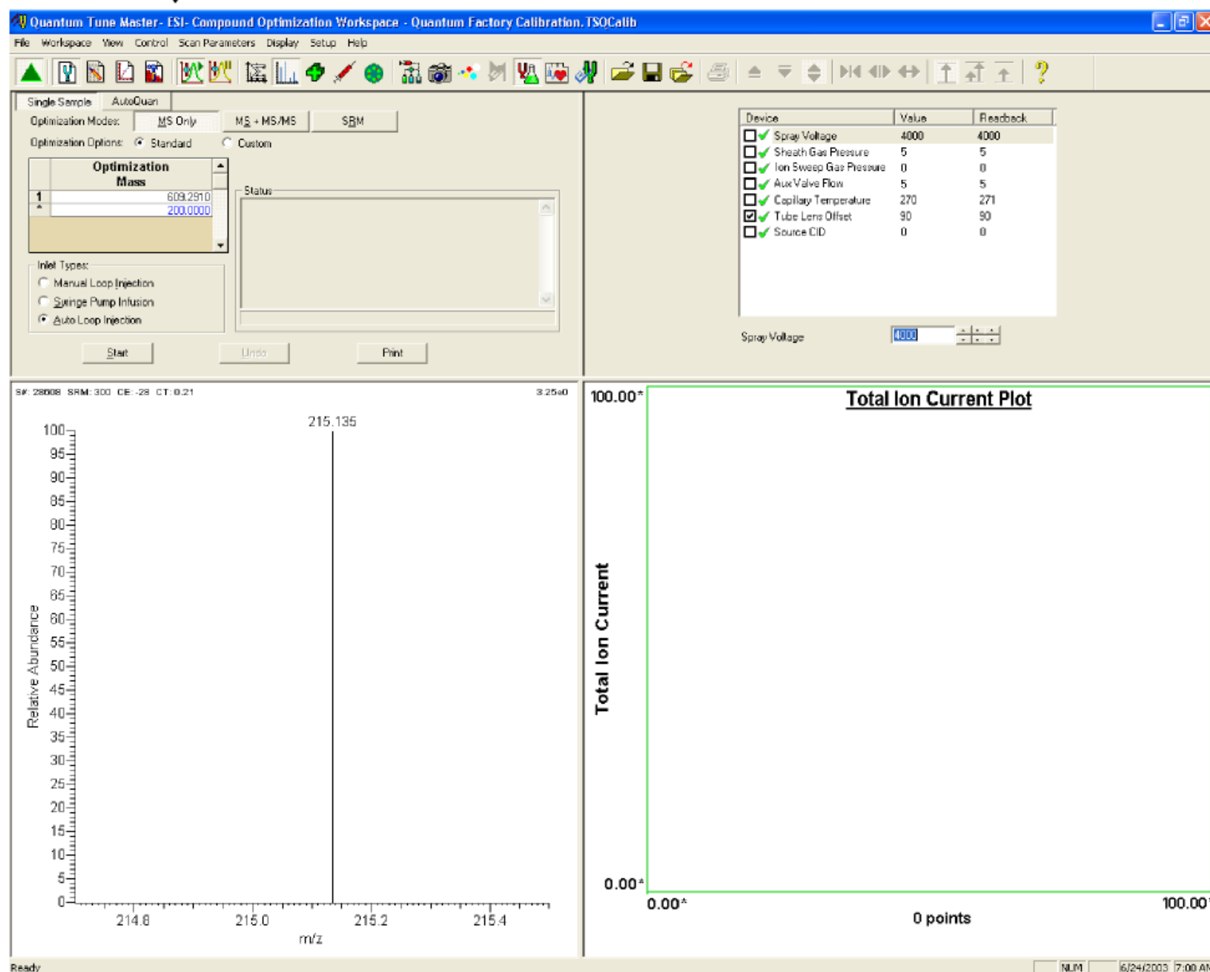


图3-3. 化合物优化工作区域，图中显示当前质谱仪处于ESI模式

4. 为化合物敏感的装置设置数值：

   a. 更改鞘气压力：

      i. 在工作区域右上角Optimize Compound Dependent Devices (优化化合物敏感装置)视图的Device Display(装置显示)框中点击Sheath Gas Pressure(鞘气压力)。该操作将设备微调框标题改为*Sheath Gas Pressure(鞘气压力)*并允许用户更改鞘气压力。见图3-4。

      ii. 在设备微调框中，输入**5**，将鞘气压力设置为5 psi。

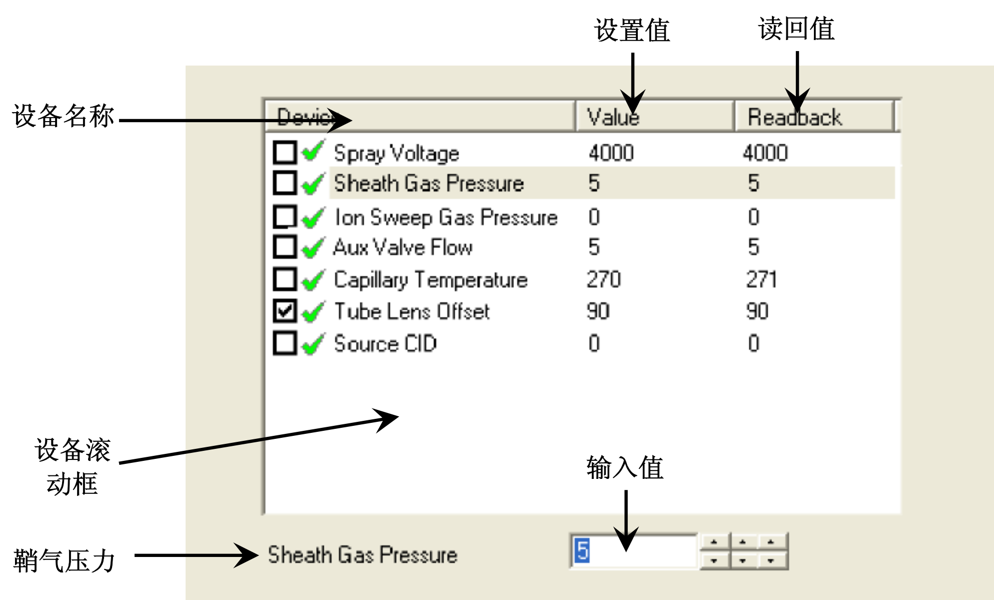


图3-4. 优化化合物敏感装置视图

   b. 更改辅助气流速：

      i. 在装置显示框中点击Aux Valve Flow(辅助气流速)。

      ii. 在设备微调框中输入**5**，将辅助气流速设置为5(任意单位)。(辅助气流速将在0到5的范围内进行调节，以达到最佳离子束密度和稳定性)

   c. 更改离子传输毛细管温度：

      i. 在装置显示框中点击Capillary Temperature(毛细管温度)。

      ii. 在装置微调框中输入**270**，将毛细管温度设置为270 ℃。(需要等待几分钟，毛细管温度才能稳定在所设置的温度。)

   d. 更改离子源裂解（CID）碰撞能量：

      i. 在设备显示框中点击Source CID(源内CID)。

      ii. 在设备微调框中输入**0**，将碰撞能量设置为0 V。

5. 配置注射泵以注入聚酪氨酸-1，3，6调谐校准溶液，开启注射泵：

   a. 选择**Setup (设置)> Syringe Pump & Sample Loop (**注射泵和定量环**)**在工作区域右上角显示注射泵和进样定量环视图。见图3-5。

   b. 在Syringe Flow Control(注射流速控制)单选框中选择On(开)选项，激活流速微调框。

   c. 在流速微调框中输入**5.00**，将流速设置为5.00 µL/min。(流速可以在1.00到10.00 µL/min的范围内进行调节，以达到最佳的离子束密度和稳定性。)

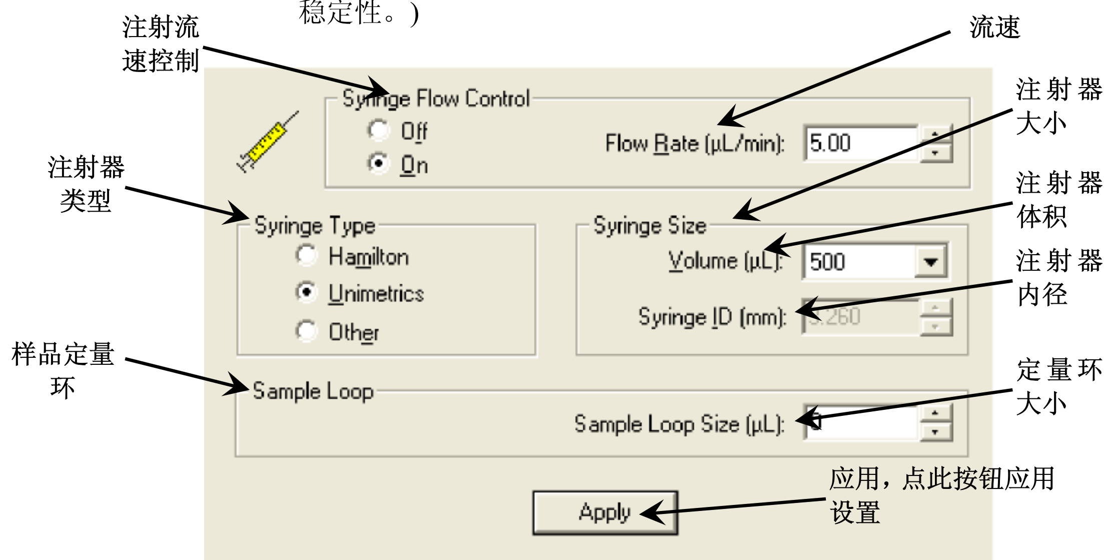


图3-5. 注射泵和定量环视图

- 如果用户使用的是Unimetrics或Hamilton注射器，转到步骤5.d。
- 如果使用的不是Unimetrics或Hamilton注射器，转到步骤5.f。

   d. 在注射器类型框中选择Unimetrics(或Hamilton)选项，指定Unimetrics (或Hamilton)注射器。

   e. 在注射器大小群组框中，从体积下拉列表框中选择*500* (或者用户所用注射器的尺寸)，指定注射器体系为500 µL。

   当指定好注射器类型和注射体积后，Tune Master自动设置合适的注射器内径数值。转到步骤5.g。

f. 如果用户使用的不是Unimetrics或Hamilton注射器，需要按以下步骤手动设置注射器内径：

  i. 在注射器类型群组框中选择Other(其它)选项，指定用户所用的不是Unimetrics或Hamilton注射器，并激活注射器内径微调框。

  ii. 在注射器大小群组框中，从下拉列表框中选择用户所用注射器的体积。

  iii. 在注射器内径微调框中输入所用注射器的内径尺寸数值。

g. 点击**Apply(应用)** 按钮应用上述设置，然后开启注射泵。现在聚酪氨酸-1，3，6调谐校准溶液将流入离子源。

现在质谱仪已经完成调谐校准的设置。

接下来，用户需要按下一部分：**利用ESI源生成稳定的离子束**中的描述产生稳定的离子束。

3.3 利用ESI源生成稳定的离子束

在开始调谐校准步骤之前，需要生成稳定的离子束。离子束密度和稳定性很大程度上依赖离子源的性能。用户通过调节鞘气压力优化离子束密度和稳定性。

按下述步骤使用ESI源建立稳定的离子流：

1. 设置扫描参数，为观察离子束密度和稳定性做准备：

a. 在Tune Master窗口中，在Control / Scan Mode(控制/扫描模式)工具栏上点击Instrument Method Development Workspace(仪器方法建立工作区域)按钮显示Instrument Method Development(仪器方法建立)工作区域。见图3-6。

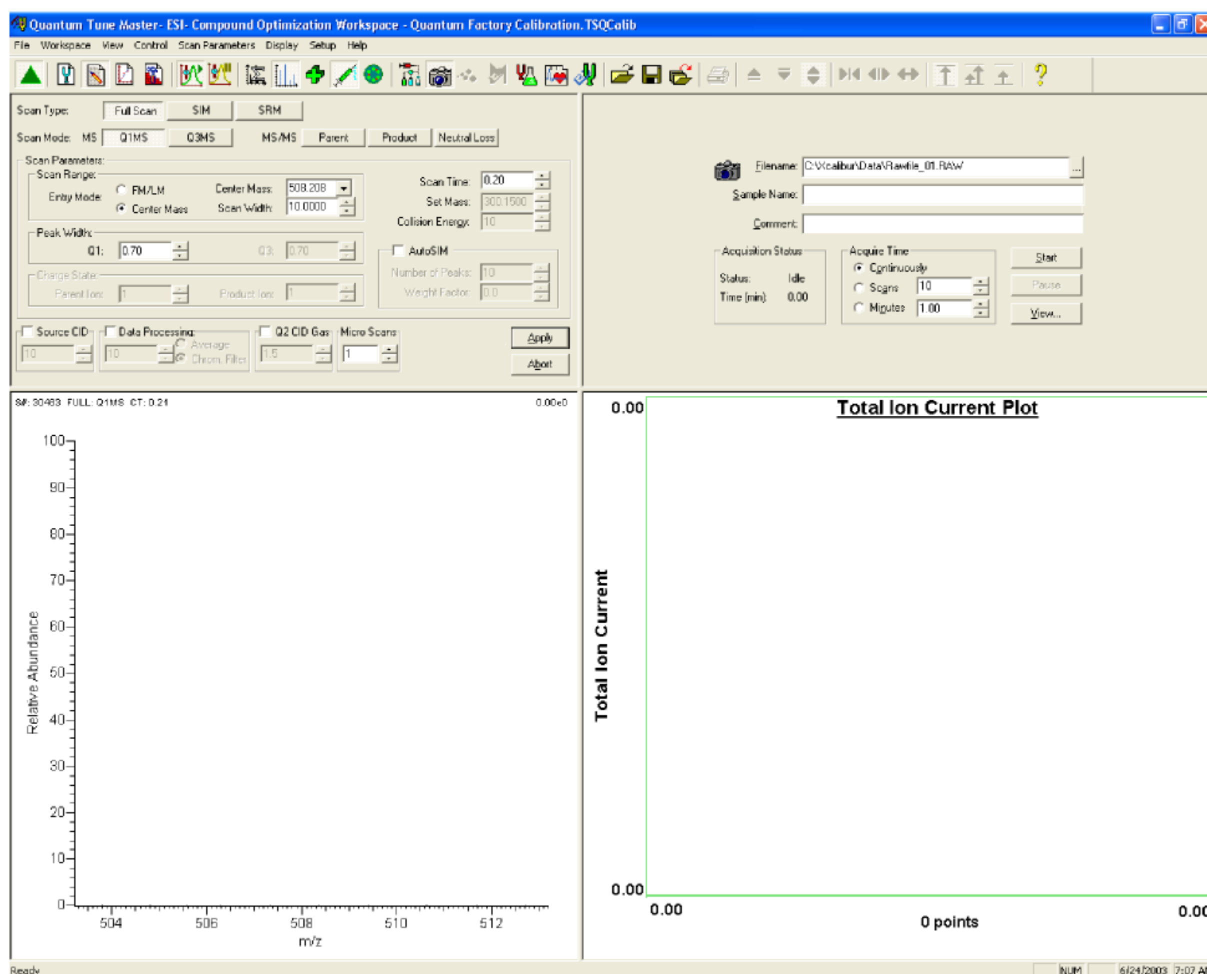


图3-6. 仪器方法建立工作区域

b. 在工作区域右上角的定义扫描视图中选择Scan Type(扫描类型)：点击Full Scan(全扫描)按钮显示Scan Parameters(扫描参数)群组框。见图3-7。

c. 选择Scan Mode(扫描模式)：Q1MS按钮选择Q1MS扫描模式。

d. 在Scan Parameters(扫描参数)群组框的Scan Range(扫描范围)群组框中选择Entry Mode(输入模式)：Center Mass选项按钮显示Center Mass(中心质量数)列表框和Scan Width(扫描宽度)微调框。

e. 在Center Mass(中心质量数)列表框中输入**508.208**，设置扫描范围的中心点为508.208 u。

f. 在Scan Width(扫描宽度)微调框中输入**10.000**，设置扫描宽度为10.000 u。

g. 在Scan Time(扫描时间)微调框中输入**0.20**，设置扫描时间为0.20 s。

h. 在Peak Width(峰宽)群组框的Q1微调框中输入**0.70**，设置峰宽为0.70 u。

i. 确认没有选中AutoSIM(自动选择离子监测)，Source CID(源内CID)，Data Processing(数据采集)和Q2 CID Gas(Q2 CID气体) 复选框，确保这些功能为Off(关闭)。

j. 确认Micro Scans设置为1。

k. 点击**Apply(应用)**按钮，应用这些扫描参数。

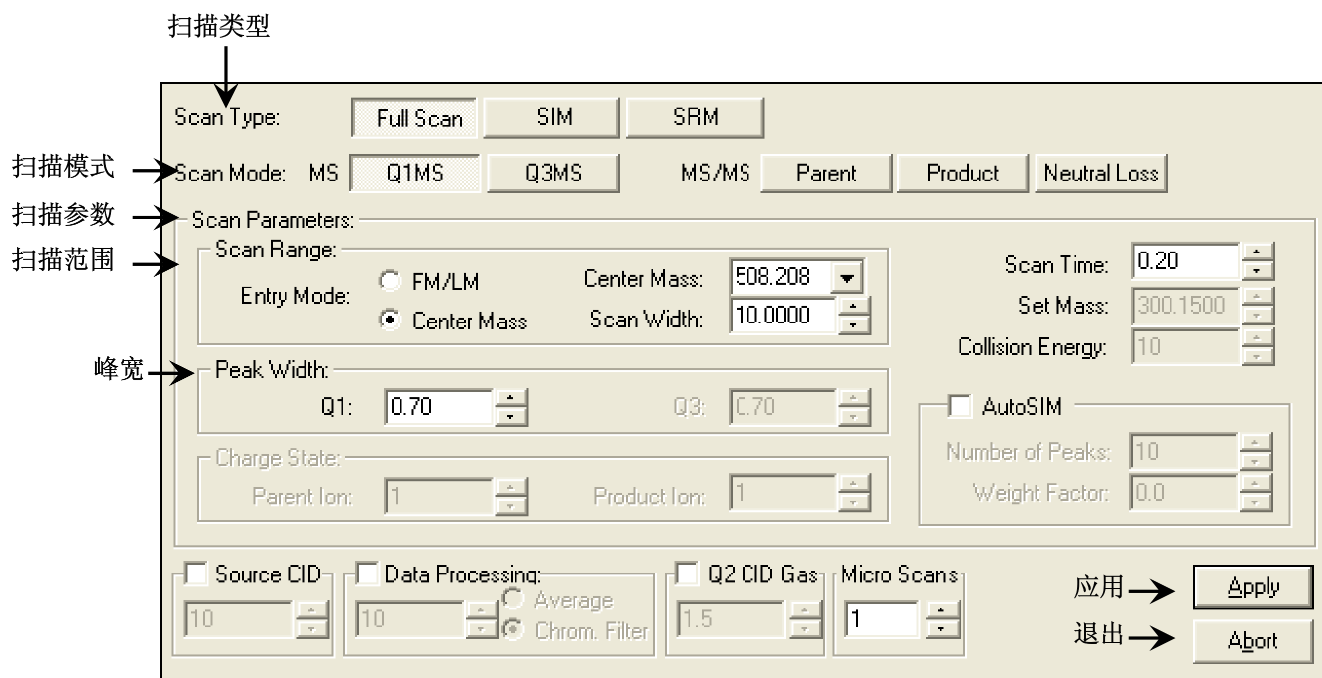
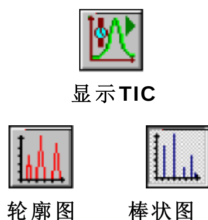


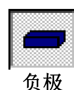
图3-7.定义扫描视图，图中显示的是要得到稳定的离子流的典型设置



2. 在Control / Scan Mode(控制/扫描模式)工具栏上点击Display TIC(显示TIC)按钮开始在工作区域右下角的图形视图中开始离子流跟踪。

3. 确保Profile/Centroid(轮廓图/棒状图)按钮在轮廓图状态，以显示轮廓类型数据。如果Profile/Centroid(轮廓图/棒状图)按钮处于棒状图状态(如左图所示)，点击Profile/Centroid(轮廓图/棒状图)按钮将数据类型转换为轮廓图。


正极


负极

用户需要将质谱仪置于正离子极性模式下完成此步骤。通过观察Polarity(极性)按钮(如左图所示)，确定质谱仪的离子极性模式。确保Polarity(极性)按钮处于正极状态。

- 如果质谱仪已经处于正离子极性模式，请转到步骤5。
- 如果需要更改质谱仪的离子极性模式，请转到步骤4。

4. 将质谱仪设置为正离子极性模式：

a. 关闭喷雾电压：

   i. 选择**Display (显示)> Compound Dependent Devices(化合物敏感装置)**在工作区域右上角显示优化化合物敏感装置视图，见图3-8。

   ii. 在Device(装置)微调框中输入**0**设置喷雾电压为0 V。

b. 在Control / Scan Mode (控制/扫描模式)工具栏中点击Polarity(极性)按钮，将质谱仪切换至正离子极性模式。

c. 再次打开喷雾电压：在Optimize Compound Dependent Devices(优化化合物敏感装置)视图的Device(装置)微调框中，输入**4000**设置喷雾电压为4000 V。

d. 确保其它化合物敏感装置都按图3-8所示的参数进行了设置。

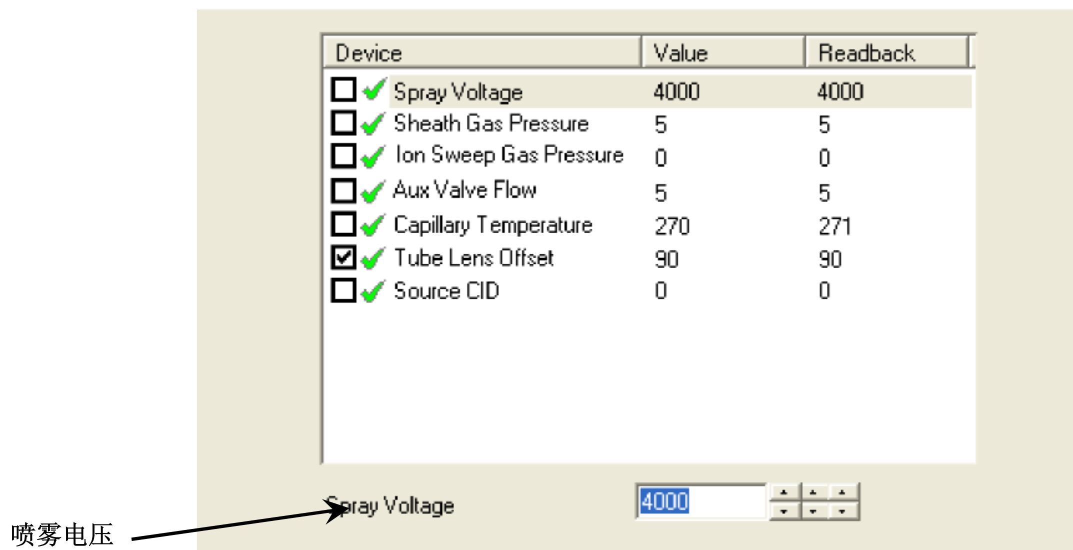
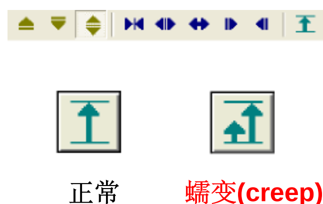


图3-8. 优化化合物敏感装置视图

5. 确定是否得到稳定的离子束：

   a. 在工作区域左下角的Spectrum(谱图)视图中，观察*m/z*为 508.208的离子质谱谱图。

   b. 在Spectrum(谱图)视图中任意位置点击一下，激活File / Display (文件/显示)工具栏上的Display(显示)按钮。



点击Normalize(归一化)工具栏按钮将其转换为Creep(蠕变)工具栏按钮。该操作将调用Y轴变形归一化模式，用户可以观察在*m/z*为 508.208时相应的离子密度，见图3-9。

> **注意：** 鞘气压力可以在1到15 psi的范围内进行调节。通过调节鞘气压力建立稳定的离子束。过低的鞘气压力可能导致信号稳定性的损失，但是，压力过高又会导致峰值强度的损失。

   c. 在谱图视图中观察m/z为508.208时的峰高。

   - 如果峰端稳定，则已产生稳定的离子束，不需要调节鞘气压力。每次扫描得到的峰高偏差不应超过30%。
   - 如果峰端不稳定，则需要调节鞘气压力以产生稳定的离子束。离子流的波动也可以在工作区域右下角的Graph(图形)视图中观察到。

形成稳定的离子束之后，调节扫描参数在Spectrum(谱图)视图中观察其它聚酪氨酸的调谐峰，这将在下一部分中介绍：**ESI/MS模式下的校验操作。**

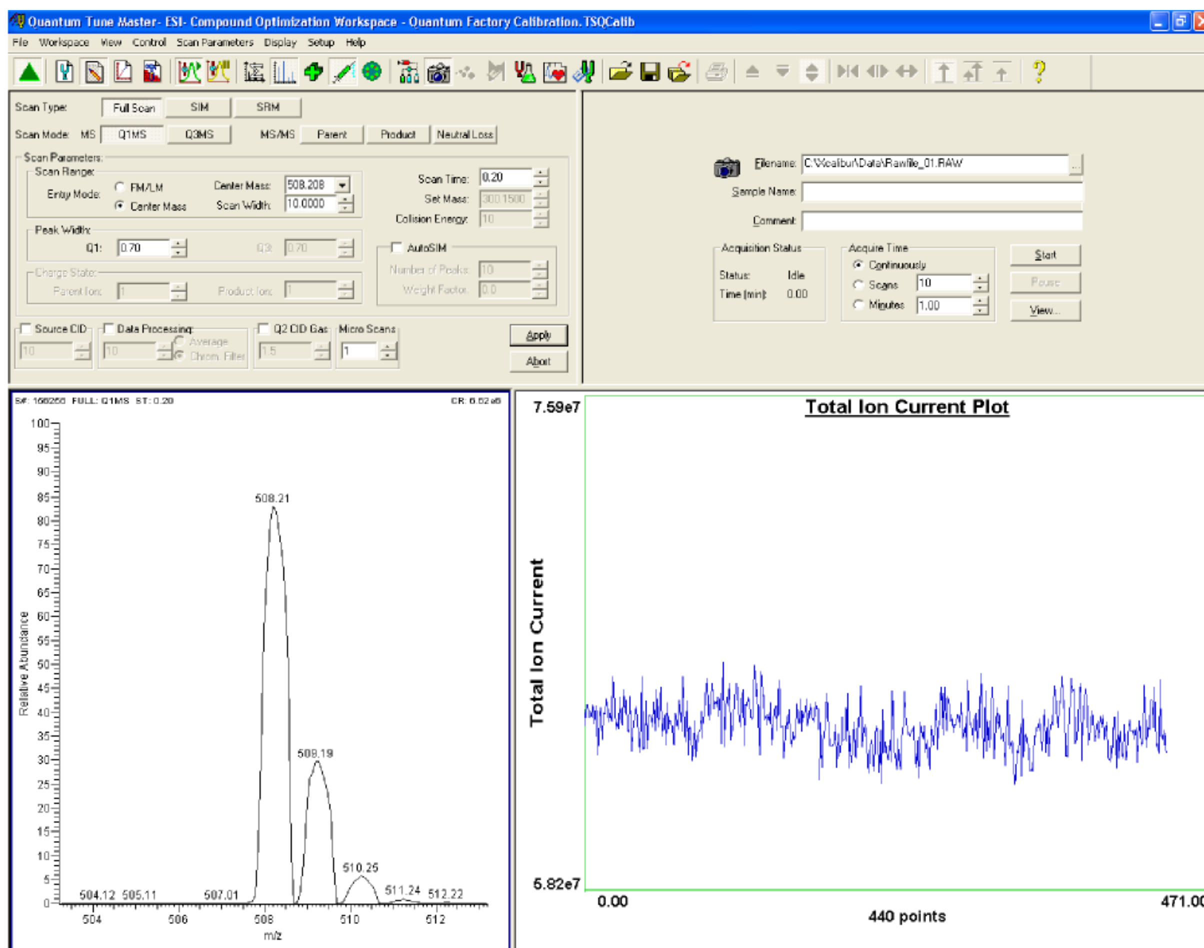


图**3-9.** 仪器方法建立工作区域，图中显示的是稳定的离子束

3.4 ESI/MS模式下的校验操作

现在用户可以确认质谱仪操作的准确性。直接将聚酪氨酸调谐校准溶液引入ESI源，并检查溶液的质谱图。

按下列步骤检查调谐校准溶液的质谱图：

1. 在工作区域左上角的Define Scan(定义扫描)视图中，为检验Q1质谱仪的正确操作设置扫描参数：

   a. 在Scan Parameters(扫描参数)群组框的Scan Range(扫描范围)群组框中，选择Entry Mode(输入模式)：FM/LM选项按钮。显示First Mass(起始质量数)和Last Mass(终止质量数)微调框。见图3-10。

   b. 在First Mass(起始质量)微调框中输入**150.000**，将扫描范围的下限设置为150.000 u。

   c. 在Last Mass(终止)微调框中输入**1050.000**，将扫描范围的上限设置为1050.000 u。

   d. 在Scan Parameters(扫描参数)群组框的Scan Time(扫描时间)微调框中输入**1.20**，将扫描时间设置为1.20 s。

   e. 选择Data Processing(数据采集)复选框，激活Data Processing(数据采集)微调框和Average(平均)选项按钮。

   f. 选择Average(平均)选项按钮，在Data Processing(数据采集)微调框中输入**10**，打开10扫描平均滤波器.

   g. 确认没有选中AutoSIM（自动选择离子监测），Source CID（源内CID）和Q2 CID Gas（Q2 CID气体）复选框，确保这些选项关闭。

   h. 确认Micro Scans设置为1。

   i. 点击**Apply(应用)**按钮应用这些扫描参数。

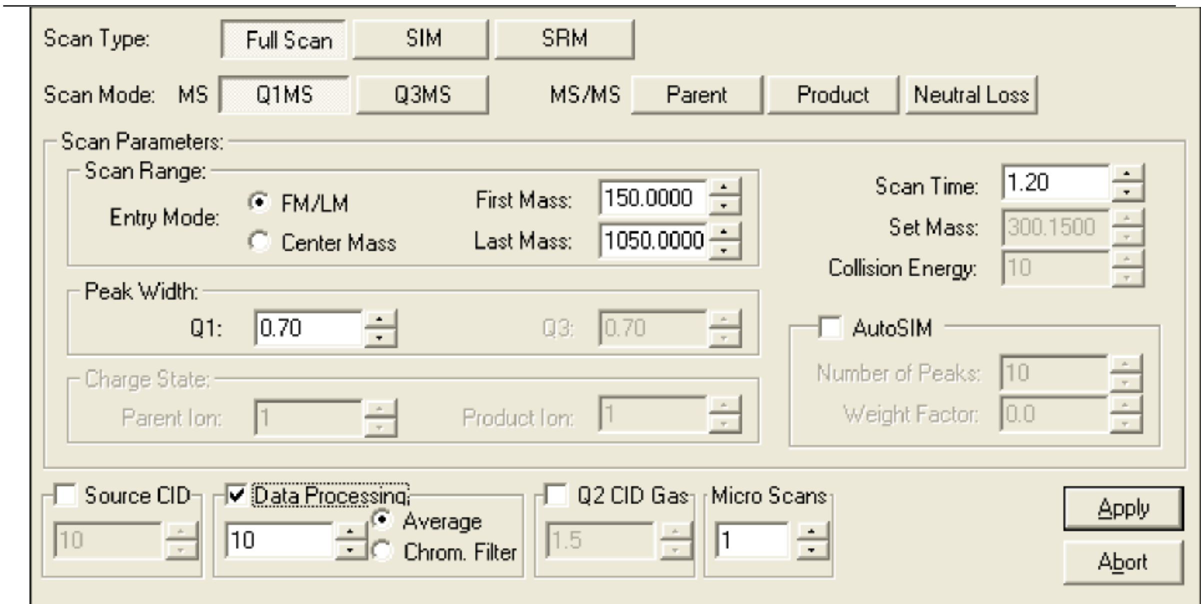


图3-10. 定义扫描视图，图中显示的是Q1MS扫描模式下检验质谱仪操作的典型设置





蠕变



正常

2. 监控Q1内的调谐校准溶液：

   a. 在工作区域左下角的Spectrum(谱图)视图中任意位置单击鼠标，激活File / Display(文件/显示)工具栏上的Display(显示按钮)，如左图所示。

   b. 点击Creep(蠕变)工具栏按钮，将其转换到Normalize(归一化)，该操作将对谱图进行归一化（normalizes）处理。

   c. 在Spectrum(谱图)视图中，观察如下调谐校准溶液单电荷离子的质谱图：

      - Torsion单体：$m/z = 182.082$
      - 聚酪氨酸三聚物：$m/z = 508.208$
      - 聚酪氨酸六聚物：$m/z = 997.398$

在谱图视图中观察归一化后的离子流信号值。见图3-11。

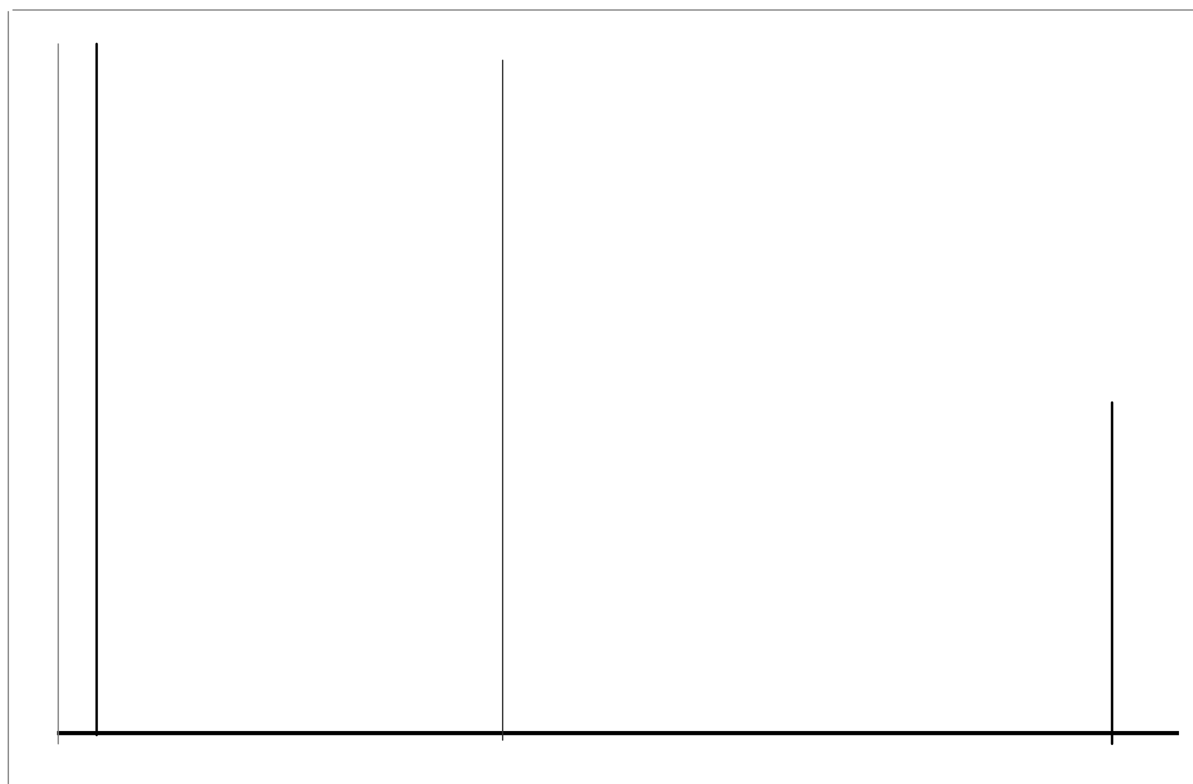


图 3-11. 谱图视图，图中显示的是聚酪按酸调谐校准溶液实时质谱图

3. 当检测到调谐校准溶液，并且回读值有起伏，那么用户可以对归一化离子流信号提出如下疑问：:

   - 三种聚酪按酸的离子峰是否都为优势峰。
   - 每种酪氨酸聚合物的峰高差值是否都在一个数量级之内。
   - 聚酪氨酸峰高量级是否在高于10^6或低于10^7的范围内。
   - 信号是否稳定，每次扫描的误差小于15%。
   - 调谐校准溶液峰形是否对称，是否被完全分辨，是否完整。

   如果这些问题的答案都是“是”，那么用户所用的质谱仪可以在Q1MS模式下正确运行。

> **注意：**为产生良好的聚酪氨酸调谐校准信号，可以调节调谐　参数。大气压力可以在1到15 psi范围内进行调节，辅助气流速可以在0到5(任意单位)的范围内调节，调谐校准溶液流速可以在1到15 µL/min的范围内调节。

如果上述问题的答案任一个为“否”，则可试着用以下方法排除故障，然后再进行一次操作检查：

- 调节鞘气压力或辅助气流速设置，或者调节调谐校准溶液流速。
- 确保熔融石英进样管没有超出ESI探针端部。
- 确保离子传输毛细管入口是清洁的，没有被异物覆盖。
- 确保进入探头的溶液没有气泡，管线和接头部分没有泄漏。

4. 设置在Q3模式下检验质谱仪运行的扫描参数：

   a. 在Define Scan（定义扫描）视图中选择Q3MS选项按钮，激活Q3扫描。见图3-12。

   b. 检查扫描参数与Q1模式下的设置是否没有改变。

   c. 点击**Apply**（应用）按钮，应用扫描设置。

5. 在Spectrum（谱图）视图中再次观察归一化离子流信号值。如果谱图合乎上面第3步的要求，则用户所用的质谱仪可以在Q3MS模式下正确运行。

现在可以准备调谐校准质谱仪。保持质谱仪现在的状态，进入下一部分：**在ESI/MS/MS正离子模式下自动调谐校准。**

图**3-12.** 定义扫描视图，图中显示的是在**Q3MS**扫描模式下检验质谱仪运行的典型设置

3.5 在ESI/MS/MS正离子模式下自动调谐校准

现在可以准备调谐校准质谱仪，使其可以在ESI模式下运行。自动调谐校准步骤首先使用调谐校准溶液调谐和校准仪器，使其可以产生稳定的溶液喷雾，并确保可以检测到足够的离子以进行质谱仪校准。然后自动校准质谱仪。

应周期性对仪器进行调谐校准(每一到三个月)，以使质谱仪有最佳的工作状态。

请按照以下步骤在ESI/MS/MS正离子模式下自动调谐校准质谱仪：

1. 在Tune Master窗口中点击System Tune and Calibration Workspace(系统调谐校准工作区域)按钮，显示System Tune and Calibration(系统调谐校准)工作区域，见图3-13。



> **注意**：用户可以在Tune Master中设置密码保护一些应受限制的工作区域。可以设置密码保护的工作区域包括：System Tune and Calibration(系统调谐校准)，Full Instrument Control(完全仪器控制)和Diagnostics(诊断)。
>
> 系统提供了三种保护级别：无保护，自动保护和定制密码保护。无保护意味着所有操作者都可以使用全部工作区域。自动保护表示Tune Master使用默认的密码*lctsq*来保护一些应受限制的工作区域。定制密码保护表示，主要操作者(或实验室管理者)可以选择密码保护应受限制的工作区域。
>
> 如果用户的TSQ Quantum Discovery MAX系统已经被密码保护，则在访问受限制工作区域(包括System Tune and Calibration(系统调谐校准)工作区域)前需要得到密码。如果丢失密码，则需要重新安装TSQ Quantum Discovery MAX软件，重新将密码设置为默认密码*(lctsq)*。

2. 在工作区域左上角的System Tune and Calibration（系统调谐校准）视图中的Compound（化合物）列表框中选择*Polytyrosine–1,3,6*。该操作将自动选择使用三种带正电荷的聚酪氨酸离子进行调谐校准(图3-13)。

3. 选择**Auto Tune-Calibration**（**自动调谐校准**）指定一个完全调谐校准操作。

4. 选择**Both**（二者）在第一级和第三级四极杆内均进行调谐校准。

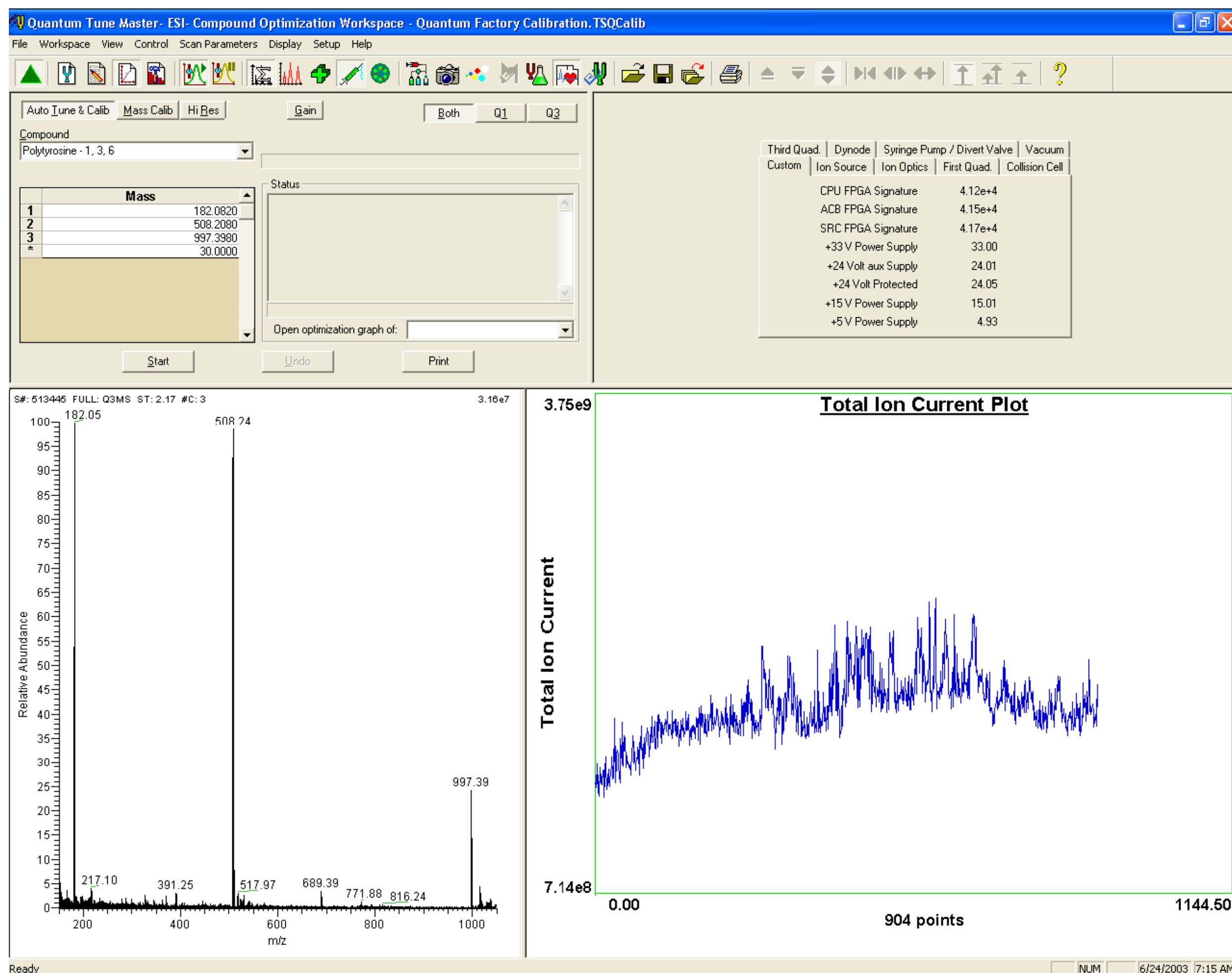


图3-13. 系统调谐校准视图，图中显示的是聚酪氨酸信号

5. 点击**Start**（开始）开始执行自动调谐校准步骤。

   系统调谐校准的实时信息会显示在Status（状态）框内，因此，用户可以监测每个子步骤的进行情况。当一个子步骤进行完毕，就会报告结果(例如，是否通过)。当全部步骤进行完毕，会显示运行概要，图3-14。

   - 若自动调谐校准过程中出现错误，转向步骤6。
   - 如果自动调谐校准过程完成，并没有出现错误，转向步骤7。

6. 如果在自动调谐校准过程中出现错误，则恢复以前质谱仪的设置，然后完成以下步骤再次执行调谐校准过程：

   a. 点击**Undo**（**撤消**）恢复预先的调谐校准设置。

   b. 点击**Accept**（**接受**）重新为质谱仪加载预先的调谐校准设置。

   c. 处理纠正引起调谐校准进程失败的问题。

   d. 转到步骤5重新开始调谐校准进程。

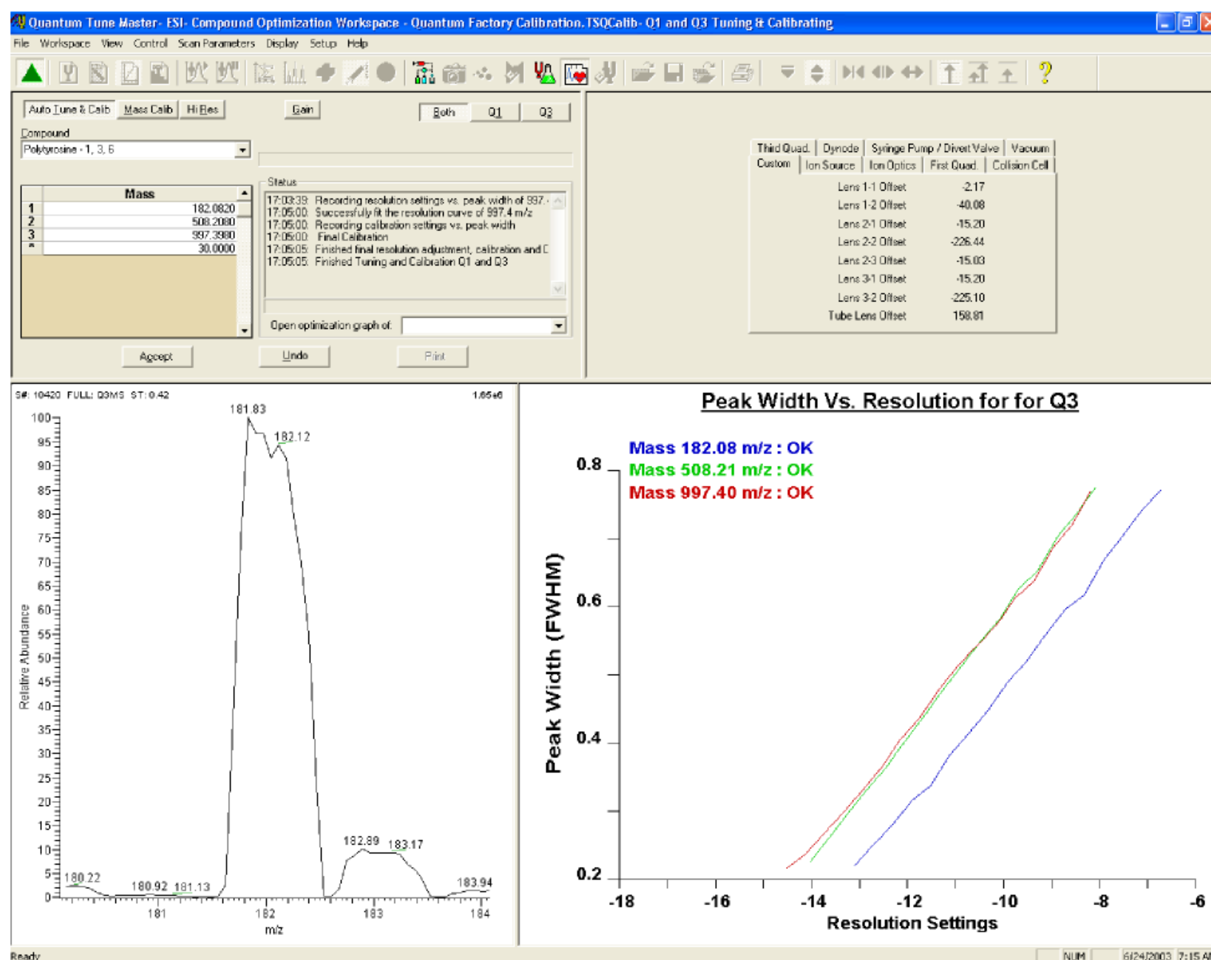


图**3-14.** 自动调谐校准进行中的系统调谐校准工作区域

7. 点击**Accept**（**接受**）按钮，接受调谐校准过程的结果。

   接受调谐校准进行结果之后，会出现一个信息框，讯问用户是否希望将正离子调谐校准的设置拷贝至负离子模式。

   - 如果已经在负离子模式下成功地对仪器进行过调谐校准，则点击**No**（否）(不将正离子模式下的参数设置拷贝到负离子模式)。
   - 如果尚未在负离子模式下调谐校准过仪器，则点击**Yes**（**是**）。

> **注意：**如果要进行高灵敏度的负离子谱图分析，推荐用户在负离子模式下也对仪器进行一次全面的调谐校准。此过程可参见3-26页下一部分：**在ESI/MS/MS负离子模式下自动调谐校准**

8. 执行如下操作保存校准文件：

   a. 点击**Save Calib. As**（**另存校准文件为**）打开Save Calibration File（保存校准文件）对话框，见图3-15。

   b. 在File Name（文件名）文本框中输入要保存的校准文件名称。

   c. 点击**Save**（**保存**），保存校准文件。

   如果在步骤8中输入的文件名已经存在，会出现一个信息框讯问是否替换现有文件。见图3-16。

   - 如果希望替换已有文件，点击**Yes**（**是**）。
   - 如果不希望替换已有文件，点击**No**（否）。在File Name（文件名）文本框中更改文件名，然后点击**Save**（**保存**）。

   此时将显示Save As（另存为）对话框，见图3-17。

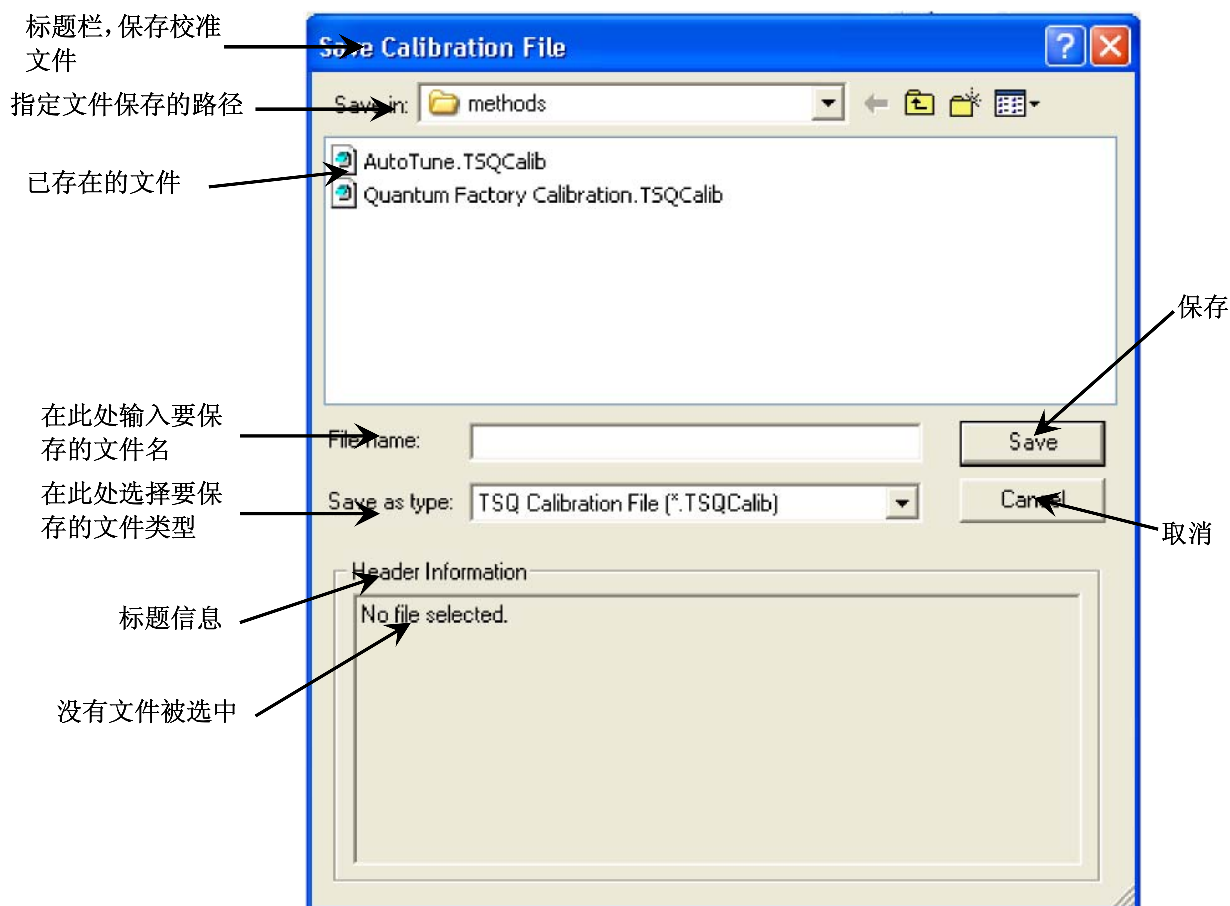


图**3-15.** 保存校准文件对话框

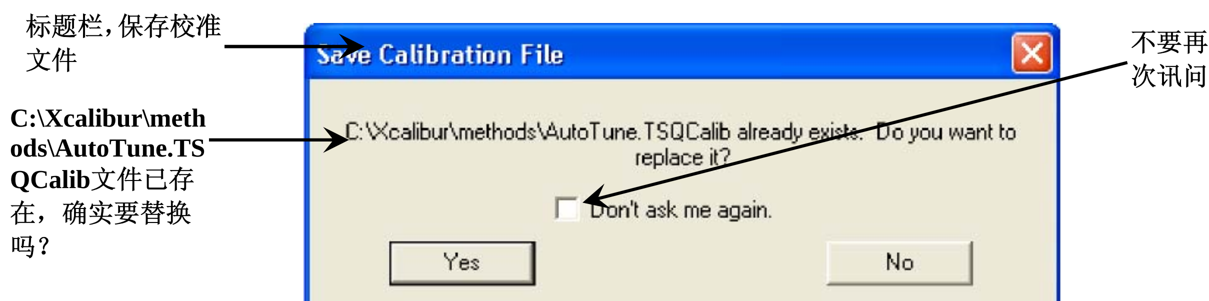


图**3-16.** 确认替换校准文件信息框

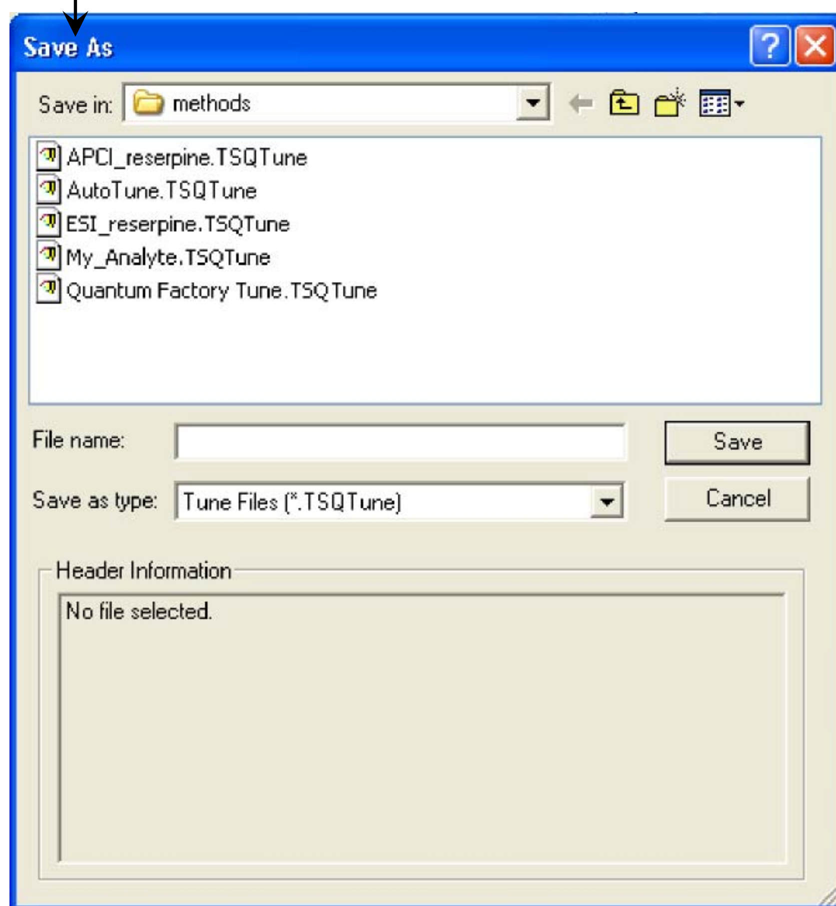


图**3-17.** 调谐方法另存为对话框

9. 保存Tune Method（调谐方法）文件：

   a. 在File Name（文件名）文本框中输入想要保存的调谐方法的文件名。

   b. 点击**Save**（保存）保存调谐方法文件。

   如果在步骤9.a中输入的文件名已经存在，会弹出一个信息框讯问是否替换现有文件。

   - 如果希望覆盖已有文件，点击**Yes**（是）。
   - 如果不希望覆盖现有文件，点击**No**（否）。在File Name（文件名）文本框中输入新的文件名，并点击**Save**（保存）。

质谱仪现在已经在正离子模式下调谐校准完毕。

如果希望在负离子模式下调谐校准质谱仪，转到下一部分：**在ESI/MS/MS负离子模式下自动调谐校准。**

用户如果不想进行高灵敏度负离子质谱分析，可以跳过负离子调谐校准步骤，直接进入3-31页的**调谐校准之后清洗系统**部分。

3.6 在ESI/MS/MS负离子模式下自动调谐校准

在正离子模式下对仪器进行过调谐校准之后，可以选择是否在负离子模式下调谐校准质谱仪

- 如果用户已经将正离子调谐校准参数拷贝至负离子模式下，并且*不打算*进行高灵敏度负离子质谱分析，可跳过此部分，转到3-31页**调谐校准之后清洗系统**。
- 如果用户*没有*将正离子调谐校准参数拷贝至负离子模式下，并且希望进行高灵敏度负离子质谱分析，则按本部分的介绍在负离子模式下调谐校准质谱仪。

请按以下步骤在ESI/MS/MS负离子模式下调谐校准质谱仪：

1. 将质谱仪更改至负离子极性模式：

   a. 关闭喷雾电压：

      i. 在Tune Master窗口中选择**Display**（显示）**> Compound Dependent Devices**（化合物敏感装置）在工作区域右上角显示Optimize Compound Dependent Devices（优化化合物敏感装置）视图，见图3-18。

      ii. 在Device（设备）微调框中输入**0** 将喷雾电压设置为0 V。

Device	Value	Readback
☐ ✔ Spray Voltage	4000	4001
☐ ✔ Sheath Gas Pressure	5	5
☐ ✔ Ion Sweep Gas Pressure	0	0
☐ ✔ Aux Valve Flow	5	5
☐ ✔ Capillary Temperature	270	271
☑ ✔ Tube Lens Offset	190	190
☐ ✔ Source CID	0	0
☐ ✔ Collision Pressure	1.5	1.5
☑ ✔ Collision Energy	-38	-38
☑ ✔ Quad MS/MS Bias	-3.0	-3.0

Spray Voltage 4000

图3-18. 优化化合物敏感装置视图


正离子极性


负离子极性

b. 在Control / Scan Mode（控制/扫描）工具栏点击Polarity（极性）按钮将检测器切换至负离子极性模式。

c. 再次打开喷雾电压：在Optimize Compound Dependent Devices（优化化合物敏感装置）视图的Device（装置）微调框中输入**3000**将喷雾电压设置为3000 V。

d. 更改鞘气压力：

i. 在Device Display（设备显示）框中，点击Sheath Gas Pressure（鞘气压力），则Device（设备）微调框标题栏改为*Sheath Gas（鞘气）*。

ii. 在Device（设备）微调框中输入**15**，将鞘气压力更改为15 psi。

e. 更改Quad MS/MS Bias voltage（四级MS/MS偏压）：

i. 在Device Display（设备显示）框中点击Quad MS/MS Bias（四级MS/MS偏压）。

ii. 在Device（设备）微调框中输入**3.0**将偏压设置为3.0 V。

2. 在工作区域左上角的System Tune and Calibration（系统调谐校准）视图中从Compound（化合物）列表框中选择*Polytyrosine – Neg（聚酪氨酸-负）*。该操作将选择三种带负电荷的聚酪氨酸离子进行自动调谐校准。见图3-19。

3. 选择**Auto Tune-Calibration（自动调谐校准）**指定一个完全调谐校准进程。

4. 选择**Both**（二者），对第一级和第三级四极杆均进行调谐校准。

5. 点击**Start**（开始），则开始执行自动调谐校准进程。

用户可以通过观察Status（状态）框监测系统调谐校准步骤的进行情况。当全部步骤进行完毕，会显示运行概要，见图3-20。

- 如果在自动调谐校准过程中出现错误，请转至步骤6。
- 如果自动调谐校准过程顺利完成，转至步骤7。

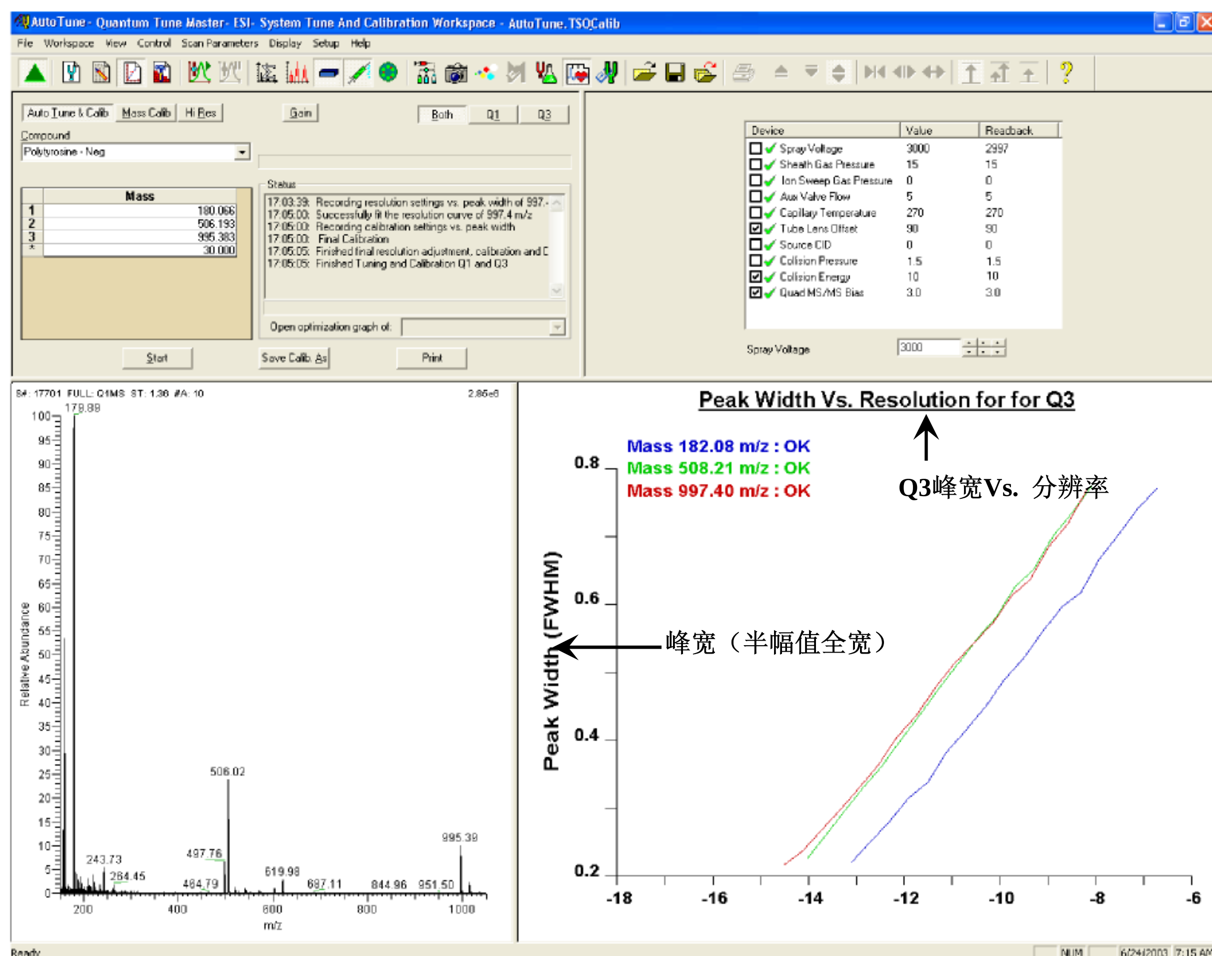


图**3-19.** 系统自动调谐校准工作区域，图中显示的是负离子模式下的调谐校准准备过程

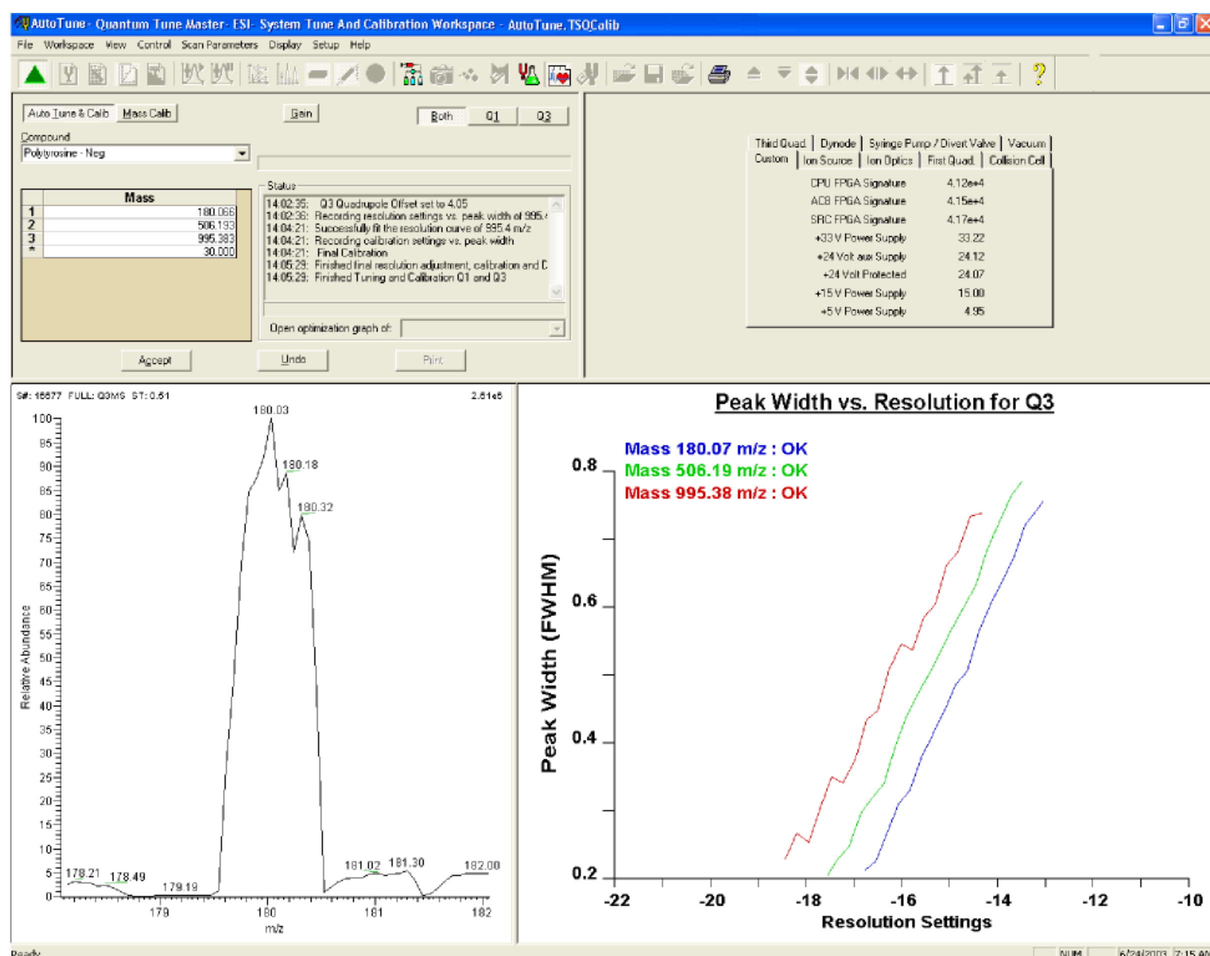


图3-20. 自动调谐校准过程期间的系统调谐校准工作区域

如果在自动调谐校准过程中发生错误，则恢复以前质谱仪设备的设置，然后完成以下步骤再次运行调谐校准过程：

a. 点击**Undo**（撤消）恢复预先的调谐校准设置。

b. 点击**Accept**（接受）重新为质谱仪加载预先的调谐校准设置。

c. 处理纠正引起调谐校准进程失败的问题。

d. 转到步骤5重新开始调谐校准进程。

7. 点击**Accept（接受）**按钮，接受调谐校准过程的结果。

   接受调谐校准进行结果之后，会出现一个信息框，讯问用户是否希望将负离子调谐校准的设置拷贝至正离子模式。

   - 如果已经在正离子模式下成功地对仪器进行过调谐校准，则点击**No（否）**(不将负离子模式下的参数设置拷贝到正离子模式)。
   - 如果尚未在正离子模式下调谐校准过仪器，则点击**Yes（是）。**

注意：如果想进行高灵敏度的正离子谱图分析，推荐用户在正离子模式下也对仪器进行一次全面的调谐校准。

8. 现在用户可以执行如下操作保存校准文件：

   a. 点击**Save Calib. As（另存校准文件为）**打开Save Calibration File（保存校准文件）对话框，见图3-15。

   b. 在File Name（文件名）文本框中输入要保存的校准文件名称。

   c. 点击**Save（保存）**，保存校准文件。

   如果在步骤8.b中输入的文件名已经存在，会弹出一个窗口讯问是否替换现有文件。

   - 如果希望替换已有文件，点击**Yes（是）**。
   - 如果不希望替换已有文件，点击**No（否）**。在File Name（文件名）文本框中更改文件名，然后点击**Save（保存）**。

此时将显示Save As（另存为）对话框。

9. 保存Tune Method（调谐方法）文件：

   a. 在File Name（文件名）文本框中输入想要保存的调谐方法的文件名。

   b. 点击**Save（保存）**保存调谐方法文件。

   如果在步骤9.a中输入的文件名已经存在，会弹出一个信息框讯问是否替换现有文件。

   - 如果希望覆盖已有文件，点击**Yes（是）**。
   - 如果不希望覆盖现有文件，点击**No（否）**。在File Name（文件名）文本框中输入新的文件名，并点击**Save（保存）**。

质谱仪现在已经在负离子模式下调谐校准完毕。

在使用用户自己的化合物优化质谱仪之前，需要清洗系统。清洗系统清参见下一部分：**调谐校准之后清洗系统**。

3.7 调谐校准之后清洗系统

本部分介绍调谐校准之后如何清洗质谱仪。推荐用户在采集目标分析物数据之前清洗质谱仪。

按如下步骤清洗质谱仪：

1. 关闭来自注射泵的液流：

   a. 在Tune Master中选择**Setup**（设置）**> Syringe Pump & Sample Loop**（注射泵和定量环）在工作区域右上角显示Syringe Pump and Sample Loop（注射泵和定量环）视图，见图3-21。

   b. 在Syringe Flow Control（注射器流速控制）群组框中选择Off（关闭）选项按钮，然后点击**Apply**（应用）关停注射泵。

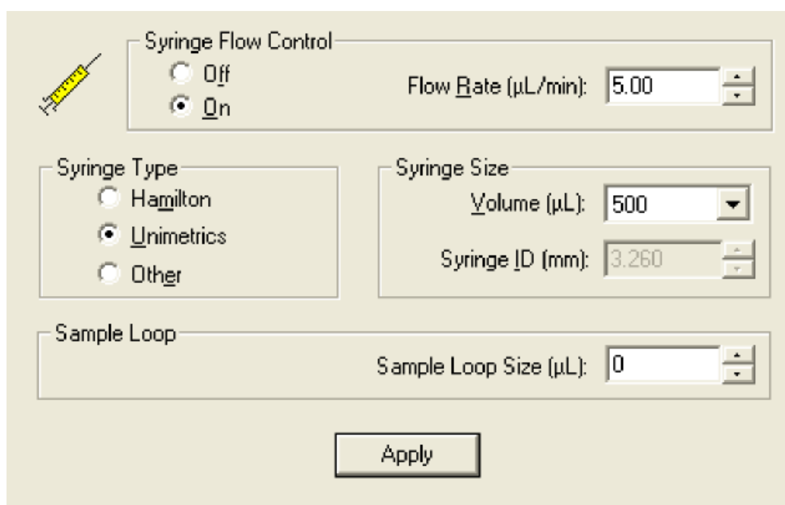


图3-21. 注射泵和定量环视图，图中显示注射泵为开启状态

2. 如果需要，在Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏中点击On/Standby（开机/待机）按钮，将质谱仪置于待机状态。
3. 将注射器从注射泵夹具上拆卸下来：

a. 在按下注射泵手柄上的黑色释放按钮的同时将手柄从注射器上抬起。

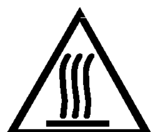
b. 取下注射器。

c. 将注射器针头从注射器接头组件上的Teflon管端拆下。

4. 用50:50的甲醇/水溶液彻底清洗注射器。



危险：确保在将ESI源暴露在大气中的氧气之前，TSQ Quantum Discovery MAX质谱仪处于待机（或关闭）模式。当质谱仪处于On（开机）状态时，离子源内有氧气存在不安全。



危险：避免烫伤。在操作温度下，离子传输毛细管可能严重烫伤人体！离子传输毛细管通常的工作温度为200到400℃。**在触摸或者拆卸离子传输毛细管和**离子吹扫锥**组件之前一定要将它们冷却到室温（大约需要20分钟）。**当离子传输毛细管暴露在空气中时，一定要小心，不要碰到其入口端。

5. 清洗样品传输管线、进样管和ESI探头：

注意：用来清洗注射器、样品传输管线、进样管和ESI探头组件的溶剂取决于用户溶解样品所用的溶剂体系。例如，如果用户使用的是高浓度的缓冲溶液，使用酸性溶液比较合适。

a. 在干净的注射器中装入50:50的甲醇/水溶液（或者其它适宜的溶剂）。

b. 握住注射器活塞适当的位置，小心将注射器针头插入注射器接头的Teflon管端部。

c. 缓慢按压下注射器活塞，用溶液清洗样品传输管线、进样管和ESI探头。目测当探头组件内ESI探头有溶液从端部流出时，使用不含麻的棉纸小心吸走多余的溶液。

d. 小心地将注射器针头从注射器接头上取出。

6. 清洗喷雾罩：

a. 在喷雾瓶中装入清洗溶液。

b. 将一大块Kimwipe®纸(或其它不含麻的棉纸)暂时放在喷雾罩下。(Kimwipe用来吸收清洗离子传输毛细管和喷雾罩的溶液)。

c. 用喷雾瓶将喷雾罩内表面的污物冲洗下来。

d. 取下用来吸收溶液的Kimwipe纸，再用干的Kimwipe纸擦拭喷雾罩表面。

现在完成了系统的清洗。使用自己的化合物优化校准，请转入下一章：在**ESI/MS/MS模式下使用用户自己的化合物优化质谱仪。**

第4章

在ESI/MS/MS模式下使用用户自己的化合物优化质谱仪

本章主要介绍用户如何使用自己的分析物作为校准化合物，在ESI/MS/MS模式下精细调谐校准质谱仪的。用户可以通过自动校准步骤进一步优化质谱仪对被分析物的灵敏度。

TSQ Quantum Discovery MAX系统提供的Tune Methods（调谐方法）的适用范围很宽。通常不需要进一步校准质谱仪即可使用。但是，对某些应用，用户可能需要对质谱仪的若干参数进行优化。例如，如下参数可以影响ESI的性能和信号质量：

- 喷雾电压
- 鞘气压力
- 辅助气流速
- 毛细管（离子传输管线）温度
- 成像透镜（Tube lens）补偿电压

这些参数的最佳设置取决于流动相流速和待测物的结构。通常，每当用户在特定应用过程中更改了流动相流速条件时，都需要校准质谱仪参数。当用户使用自动校准进程优化质谱仪参数时，该进程将调节上面列出的所有参数和施于离子透镜系统的电压，直到待测物的离子传输达到最大。
离子传输管线被加热，以使传输到质谱仪的离子达到最大。仅对ESI而言，用户需要设置毛细管（离子传输管线）温度，使其与溶液流速相匹配。参见1-7页的表1-2，获得ESI/MS操作参数设置的指导原则。在此操作步骤中，毛细管温度设置为350℃。

> **注意：**用户在使用自己的化合物进行优化校准之前，要确认在过去的三个月内对TSQ Quantum Discovery MAX质谱仪进行过调谐校准。如果需要调谐校准系统，请参见**第3章：在ESI/MS/MS模式下调谐校准质谱**中的步骤。

按本章讲述的如下操作步骤，在ESI/MS/MS模式下用自己的化合物优化质谱仪：

- 设置注射泵和转向/进样阀的定量环。
- 在Tune Master中为用户特定的化合物设置质谱仪。
- 运行自动化合物优化进程，精细校准对化合物敏感的质谱仪参数。
- 保存新的Tune Method（调谐方法）。

本章包括以下部分：

- 在ESI模式下开始通过定量环引入样品。
- 在ESI/MS/MS模式下使用用户自己的化合物设定优化参数。
- 在ESI/MS/MS模式下使用用户自己的化合物进行自动优化。

4.1 在ESI模式下开始通过定量环进样引入样品

下述步骤是如何通过定量环引入用户自己的化合物。图4-1显示的是由注射泵向LC流动相引入ESI/MS样品的管线连接。

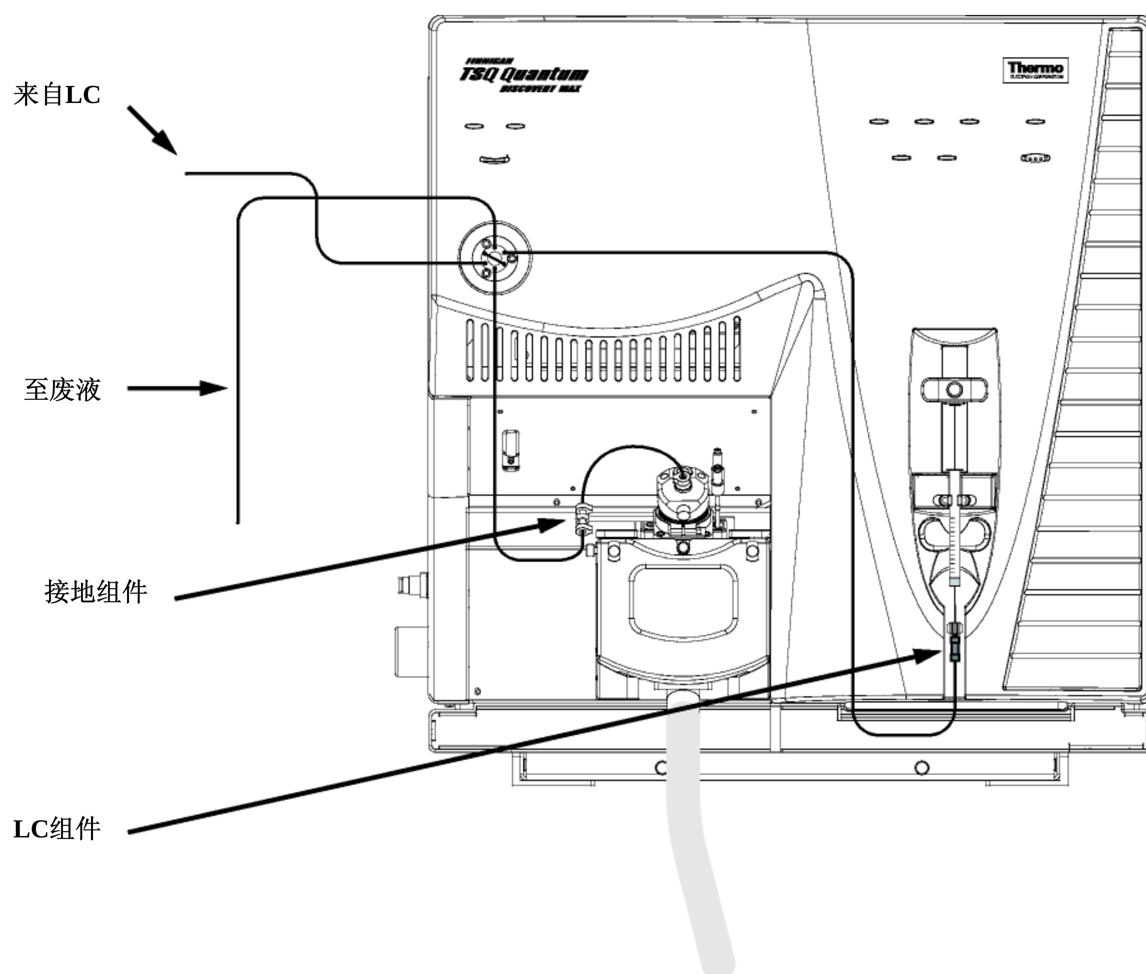


图**4-1.** 通过定量环注射向**LC**流动相引入样品的**ESI/MS**进样管线连接

> **注意：**用户可以使用**附录A：溶液配制**中提到的利血平溶液或者用户的其它目标化合物。

注意：下面的步骤假定用户已经对TSQ Quantum Discovery MAX仪器和Tune Master非常熟悉。如果需要其它的指导，请参考TSQ Quantum Discovery MAX在线帮助、**Finnigan TSQ Quantum Discovery MAX 开始连接**或者**Finnigan TSQ Quantum Discovery MAX硬件手册。**

按下列步骤连接由注射泵向LC流动相引入ESI/MS样品的管线：

1. 将注射器从注射泵夹具上拆卸下来：
   a. 在按下注射泵手柄上的黑色释放按钮的同时将手柄从注射器上抬起。
   b. 取下注射器。
   c. 将注射器针头从注射器接头组件上的Teflon管端拆下，见图4-2。

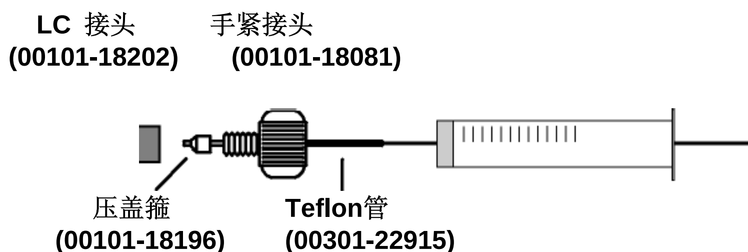


图4-2. 注射器和注射器接头组件

2. 拆卸安装在注射器接头组件和离子源接地组件之间的样品传输管线。
3. 在注射器接头组件和转向/进样阀之间安装一条样品传输管线：
   a. 在注射器接头组件的LC接头上连接一段适当长度的管线。
   b. 将装有螺母和压盖箍的管线的一端连接到转向/进样阀的5号端口。见图4-3。

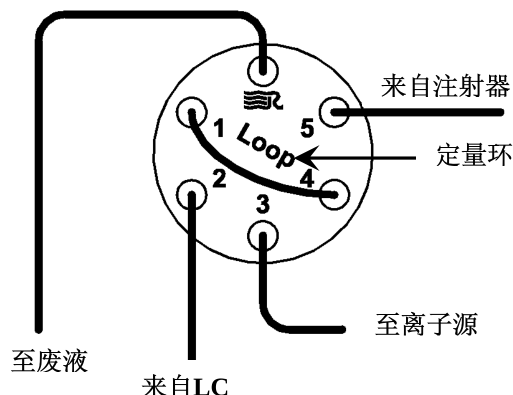


图4-3. 转向/进样阀，图中显示的是定量环进样管线

> **注意：**为将交叉污染的可能降低到最小，调谐校准溶液、样品溶液和化合物优化溶液，请使用不同的注射器和不同的样品传输管。

4. 将420 µL浓度为2 pg/µL的利血平样品溶液装入一只洁净的、500-µL的Unimetrics注射器。(利血平溶液的准备请参见**附录A：溶液配制**。)

> **注意：**在将针头再次插入注射器接头组件之前，确保其端部已经用洁净的、无麻的棉纸擦拭过，这样可以将由接头组件产生的交叉污染降到最小。

5. 握住注射器活塞适当的位置，小心地将注射器针头插入注射器接头的Teflon管端部。(图4-2)
6. 将注射器装入注射泵的注射器夹具中。
7. 在按住注射泵手柄上的黑色释放按钮的同时，压下手柄，直到它刚好接触到注射器活塞。
8. 在转向/进样阀和离子源接地组件之间安装一段样品传输管线：
   a. 聚齐必须的零件，安装样品传输管线。见图4-4。
   b. 将一段长度合适的、末端装有螺母和压盖箍的管线连接到转向/进样阀的3号端口（图4-3）。
   c. 将装有螺母和压盖箍的管线的一端连接到离子源上的接地组件（图4-1）。

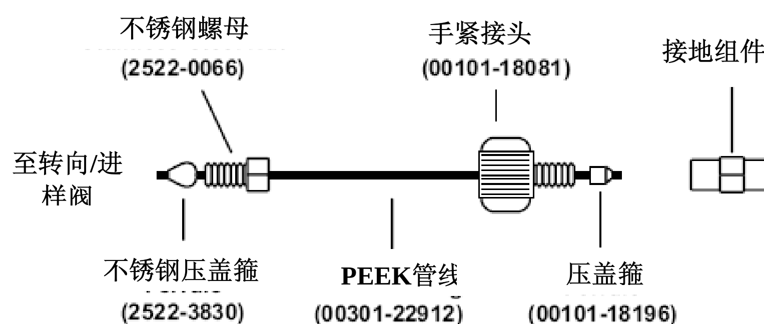


图4-4. 样品传输管线，安装在转向/进样阀和接地组件之间

9. 在转向/进样阀的1号和4号端口间安装一个5 µL、带有螺母和压盖箍的定量环。

10. 在LC系统和转向/进样阀间安装一条溶剂管线：

    a. 将一段长度合适、带有适当接头和压盖箍的管线连接至LC系统的出口。

    b. 将带有螺母和压盖箍的管线的另一端连接至转向/进样阀的2号端口。

11. 在转向/进样阀上安装一条废液管，并将其出口连接至废液容器：

    a. 将一段长度合适、带有螺母和压盖箍的定量环连接至转向/进样阀的6号端口。(6号端口用Rheodyne®的标志 ®标出)。

    b. 将管线的另一端插入废液容器。

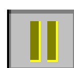
    c. 至此，已经完成通过定量环进样引入样品的装配准备工作。请转入下一部分：**在ESI/MS/MS模式下使用用户自己的化合物开始优化。**

4.2 在ESI/MS/MS模式下使用用户自己的化合物开始优化

按照如下步骤配置质谱仪，以便在ESI/MS/MS模式下用用户自己的化合物优化化合物敏感装置。



开启



待机

1. 在Tune Master窗口中点击Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏上的On/Standby（开机/待机）按钮，开启质谱仪。

2. 如果需要，将离子极性模式改为正离子极性模式：

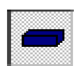
a. 关闭喷雾电压：

i. 选择**Display**（显示）**> Compound Dependent Devices**（化合物敏感装置），在工作区域右上角显示Optimize Compound Dependent Devices（优化化合物敏感装置）视图，见图4-5。

ii. 在Device（设备）微调框中输入**0**，将喷雾电压设置为0 V。



正极



负极

b. 在Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏点击Polarity（极性）按钮切换质谱仪的离子极性模式。

- 如果想要优化当前显示的Tune Method（调谐方法）,转到步骤4。
- 如果想要优化当前显示之外的另外一种Tune Method（调谐方法），首先需按步骤3所述，打开需要的Tune Method（调谐方法）。

Device	Value	Readback
☐ ✔ Spray Voltage	3000	2997
☐ ✔ Sheath Gas Pressure	15	15
☐ ✔ Ion Sweep Gas Pressure	0	0
☐ ✔ Aux Valve Flow	5	5
☐ ✔ Capillary Temperature	270	270
☑ ✔ Tube Lens Offset	90	90
☐ ✔ Source CID	0	0
☐ ✔ Collision Pressure	1.5	1.5
☑ ✔ Collision Energy	10	10
☑ ✔ Quad MS/MS Bias	3.0	3.0

Spray Voltage 3000

图4-5. 优化化合物敏感装置视图，图中显示是负离子极性下的设置

3. 打开存储有利血平校准或用户待测物设置的Tune Method（调谐方法）文件：



a. 在File / Display（文件/显示）工具栏上点击Open File（打开文件）按钮，显示Open Tune Method（打开调谐方法）对话框，见图4-6。

b. 确认显示的是 *C:\Xcalibur\methods* 文件夹。选择文件 *ESI_reserpine.TSQTune* (或者用户自己的调谐方法)。

c. 点击**Open**（打开）按钮打开文件。Tune Master将Tune Method（调谐方法）参数下载至质谱仪。

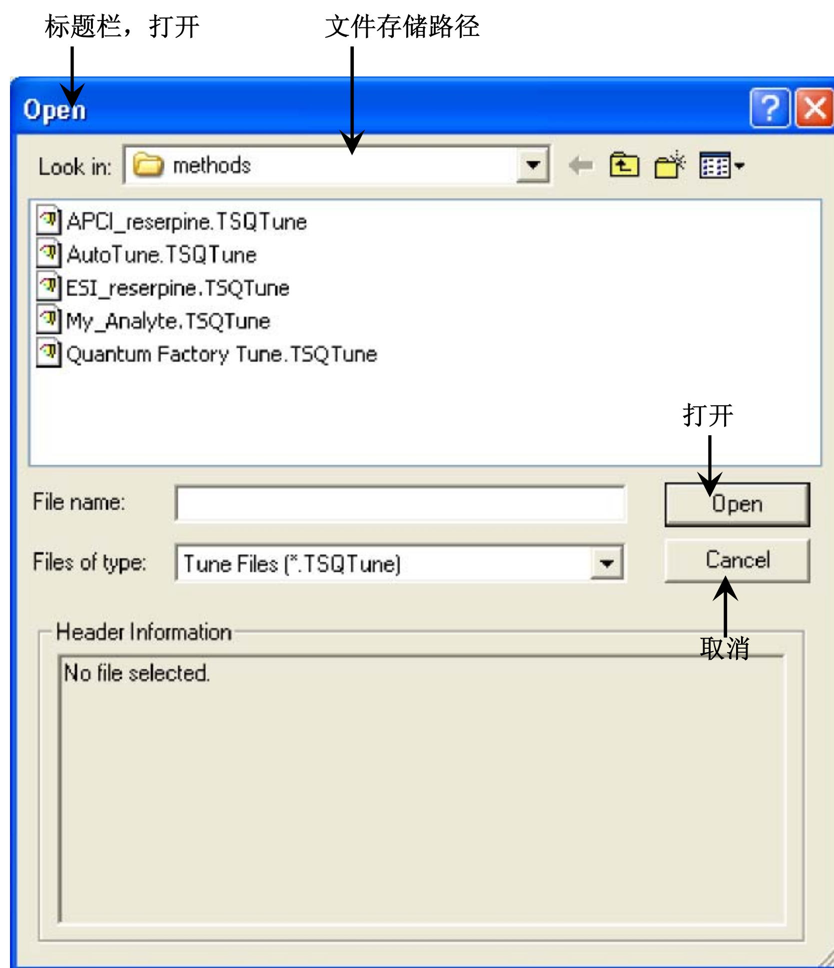


图4-6. 打开调谐方法对话框

4. 选择**Display**（显示）**> Compound Dependent Devices**（**化合物敏感装置**）在工作区域右上角显示Optimize Compound Dependent Devices（优化化合物敏感装置）视图，见图4-7。

5. 为化合物敏感装置设置数值：

   a. 确保在Device Display（装置显示）框中已选中Spray Voltage（喷雾电压）。

   b. 在Optimize Compound Dependent Devices（优化化合物敏感装置）视图中的Device（装置）微调框中输入**4000**，将喷雾电压改为4000 V。

   c. 设置鞘气压力：

      i. 在Device Display（装置显示）框中点击Sheath Gas Pressure（鞘气压力）。该操作将Device（装置）微调框标题栏改为*Sheath Gas Pressure（鞘气压力）*并且允许用户更改鞘气压力。

      ii. 在Device（装置）微调框中输入**30**，将鞘气压力设置为30 psi。

   d. 设置辅助气流速：

      i. 在Device Display（装置显示）框中点击Aux Valve Flow（辅助气阀流速）。

      ii. 在Device（装置）微调框中，输入**10**，将辅助气流速设置为10个单位。

   e. 设置毛细管（离子传输导管）温度：

      i. 在Device Display（装置显示）框中点击Capillary Temperature（毛细管温度）。

      ii. 在Device（装置）微调框中输入**350**，将毛细管温度设置为350 ℃。

Device	Value	Readback
☐ Spray Voltage	4000	4000
☐ Sheath Gas Pressure	30	30
☐ Ion Sweep Gas Pressure	0	0
☐ Aux Valve Flow	10	10
☐ Capillary Temperature	350	350
☑ Tube Lens Offset	190	190
☐ Source CID	0	0
☐ Collision Pressure	1.5	1.5
☑ Collision Energy	-38	-38
☑ Quad MS/MS Bias	-3.0	-3.0

Spray Voltage 4000

图4-7. 优化化合物敏感装置视图，图中显示为正离子极性设置

f. 设置离子源（CID）裂解碰撞能量：

i. 在Device Display（装置显示）框中点击Source CID（源内CID）。

ii. 在Device（装置）微调框中输入**0**，将碰撞能量设置为0 V。

g. 设置碰撞压力：

i. 在Device Display（装置显示）框中点击Collision Pressure（碰撞压力）。

ii. 在Device（装置）微调框中输入**1.5**，将碰撞压力设置为1.5 mTorr。

h. 设置碰撞能量：

i. 在Device Display（装置显示）框中点击Collision Energy（碰撞能量）。

ii. 在Device（装置）微调框中输入**-38**，将碰撞能量设置为-38 eV。

i. 设置Quad MS/MS（四极杆MS/MS）偏压：

i. 在Device Display（装置显示）框中点击Quad MS/MS Bias（四极杆MS/MS偏压）。

ii. 在Device（装置）微调框中输入**-3.0**，将偏压设置为-3.0 V。

确保Device Display（装置显示）框中显示的回读值约等于设定值。(用户可能需要等待几分钟，以使毛细管温度稳定在设定值上。)

6. 配置Syringe Pump（注射泵），以便自动将利血平样品溶液注入样品定量环：

a. 选择**Setup（设置）> Syringe Pump & Sample Loop（注射泵和样品定量环）**，在工作区域右上角显示Syringe Pump and Sample Loop（注射泵和样品定量环）视图，见图4-8。

b. 在Syringe Flow Control（注射器流速控制）群组框中选择Off（关闭）选项按钮，关闭注射泵。

- 如果用户使用的是Unimetrics或Hamilton注射器，请转到步骤6.c。
- 如果用户使用的*不是*Unimetrics或Hamilton注射器，请转到步骤6.e。

c. 在Syringe Type（注射器类型）群组框中选择Unimetrics (或Hamilton)选项按钮，指定Unimetrics (或Hamilton)注射器。

d. 在Syringe Size（注射器尺寸）群组框中从Volume（体积）列表框中选择*500* (或者用户注射器尺寸)指定注射器体积为500 μL。

当用户指定注射器类型和注射器体积，Tune Master自动设置适当的注射器ID（内径）值。请转到步骤6.f。

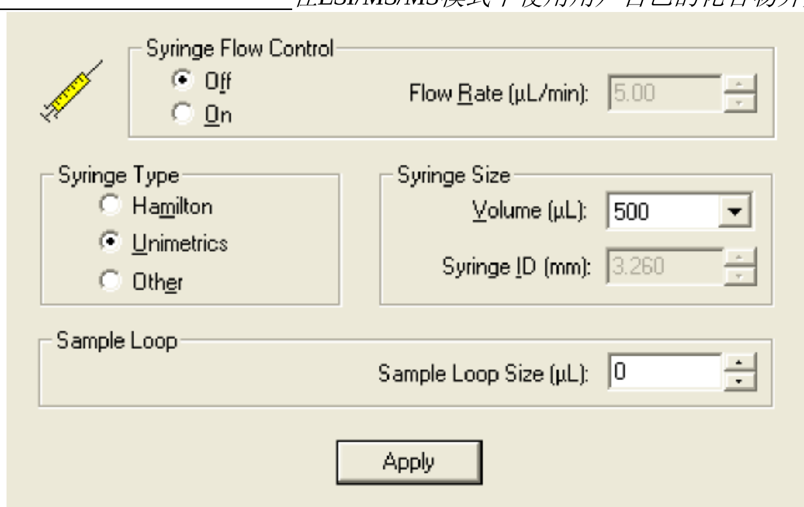


图4-8. 注射泵和样品定量环视图，图中显示的是自动定量环注射设置

e. 如果用户使用的不是Unimetrics或Hamilton注射器，需要按以下步骤手动指定注射器内径：

i. 在Syringe Type（注射器类型）群组框中选择Other（其它）选项按钮，指定使用的不是Unimetrics或Hamilton注射器，并激活Syringe ID（注射器内径）微调框。

ii. 在Syringe Size（注射器尺寸）群组框的Volume（体积）列表框中选择选择用户所用注射器的体积。

iii. 在Syringe ID（注射器内径）微调框中输入用户所用注射器的内径。

f. 在Sample Loop（样品定量环）群组框的Sample Loop Size（样品定量环尺寸）微调框中输入**5**指定定量环大小为5 µL。

g. 点击**Apply**（应用）按钮应用这些设置。注射泵现在被配置为以适当的样品量注入样品定量环。

7. 启动溶剂流：



a. 在Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏点击AS/LC Direct Control（AS/LC直接控制）按钮，在工作区域右上角显示Inlet Direct Control（入口直接控制）视图，见图4-9。

> **注意：** 下面的步骤假定异丙醇和HPLC级用水的试剂瓶分别标为A和B。

b. 将Surveyor MS Pump（Surveyor质谱泵）传送50:50异丙醇/水溶液的速度设置为400 µL/min：

   i. 在Inlet Direct Control（入口直接控制）视图Solvents Proportions (%) and Flow Rate（溶剂比例（%）和流速）群组框中，标志为*A*的文本框中输入**50**，指定溶剂A传送量为50%。

   ii. 在标志为*B*的文本框中输入**50**指定溶剂B传送量为50%。

   iii. 在Flow Rate（流速）文本中输入400，指定流速为400 µL/min。

c. 在Direct Control Panel（直接控制面板）群组框中点击Start（启动）按钮，启动Surveyor质谱泵。

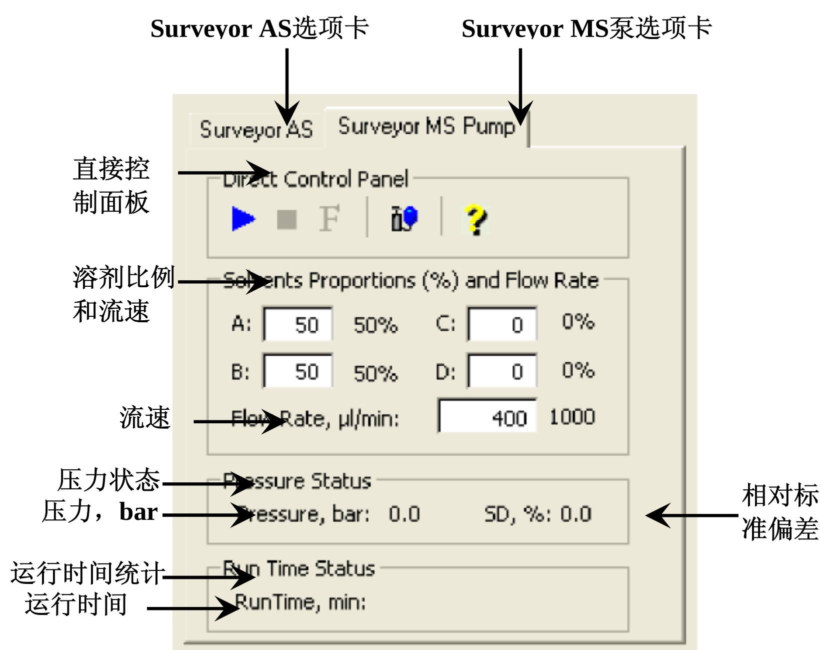


图4-9. 入口直接控制视图，图中显示泵为关闭状态

现在系统设置为自动将利血平溶液传送到离子源，以便用用户自己的化合物优化质谱仪。

下面，用户可以用自己的化合物在ESI/MS/MS模式下优化化合物敏感装置。请转到下一节：**在ESI/MS/MS模式下使用用户自己的化合物自动优化。**

4.3 在ESI/MS/MS模式下使用用户自己的化合物自动优化

用户优化质谱仪以便获得用户所用化合物的最大离子传输效率。优化过程可以精细校准化合物敏感装置的参数，例如喷雾电压、毛细管温度和透镜补偿电压。用户只能在成功调谐校准仪器之后再对质谱仪进行优化。

按如下步骤在ESI/MS/MS模式下自动优化质谱仪，利血平的传输是从m/z＝609.281到m/z＝195.066。

1. 在Tune Master中的Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏上点击Compound Optimization Workspace（化合物优化工作区域）按钮，显示Compound Optimization（化合物优化）工作区域，见图4-10。



2. 在工作区域左上角的Compound Optimization（化合物优化）视图中，确认显示的是Single Sample（单样品）页面。
3. 设置优化参数，以监测利血平从m/z 609.281到m/z 195.066的传输：
   a. 选择Optimization Modes（优化模式）：SRM（选择反应监测）按钮，允许用户优化一个选中的反应。(图4-10)
   b. 选择Optimization Options（优化选项）：Standard（标准）选项按钮校准默认选择的设备（在这个配置中，透镜补偿电压，碰撞能量和四极杆MS/MS偏移电压是对被优化装置）。
   c. 在Optimization（优化）列表中，输入母离子质量数为**609.281**，将SRM反应的母郭质量数设置为离子质荷比是m/z＝609.281。
   d. 输入子离子质量数为**195.066**，将SRM反应的子离子质量数设置为离子质荷比为m/z＝195.066。

> **注意：**用户需要选择入口类型按钮，以适应用户所使用的将样品引入质谱仪的入口模式。此过程需要使用Auto Loop Injection（自动定量环注射）选项。

   e. 在Inlet Types（入口类型）群组框中选择Auto Loop Injection（定量环进样）选项按钮，将优化溶液自动引入TSQ Quantum Discovery MAX系统。

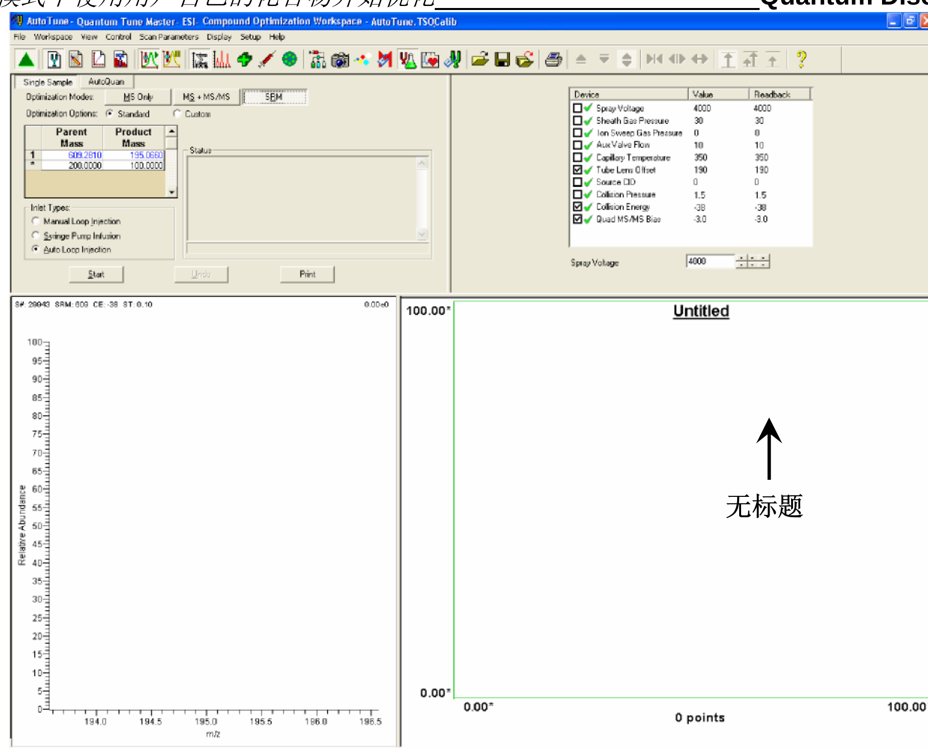


图4-10. 化合物优化工作区域

4. 点击**Start**（开始）按钮，启动自动校准过程。

> **注意：**如果在化合物优化过程中注射器内样品溶液耗尽，则仪器会暂停自动校准过程，并显示如下信息：*Syringe out of sample, Reload and click OK.（注射器内样品耗尽，重新装入样品溶液并点击OK）。*如果出现这种情况，重新填装注射器，并点击**OK**继续进行优化进程。

当化合物优化进程顺利完成，Status（状态）框中显示 *Finish compound optimization（化合物优化完成）*信息，见图4-11。

- 如果化合物优化进程完成没有出现错误，并且195.066片断的碎裂曲线为高斯曲线（如图4-12所示）或者为平滑的、斜率为正的曲线，请转至步骤6。
- 如果在化合物优化过程中出现错误，或者195.066片断的碎裂曲线有振荡、包括多重峰或者极其杂乱，请转到步骤5。

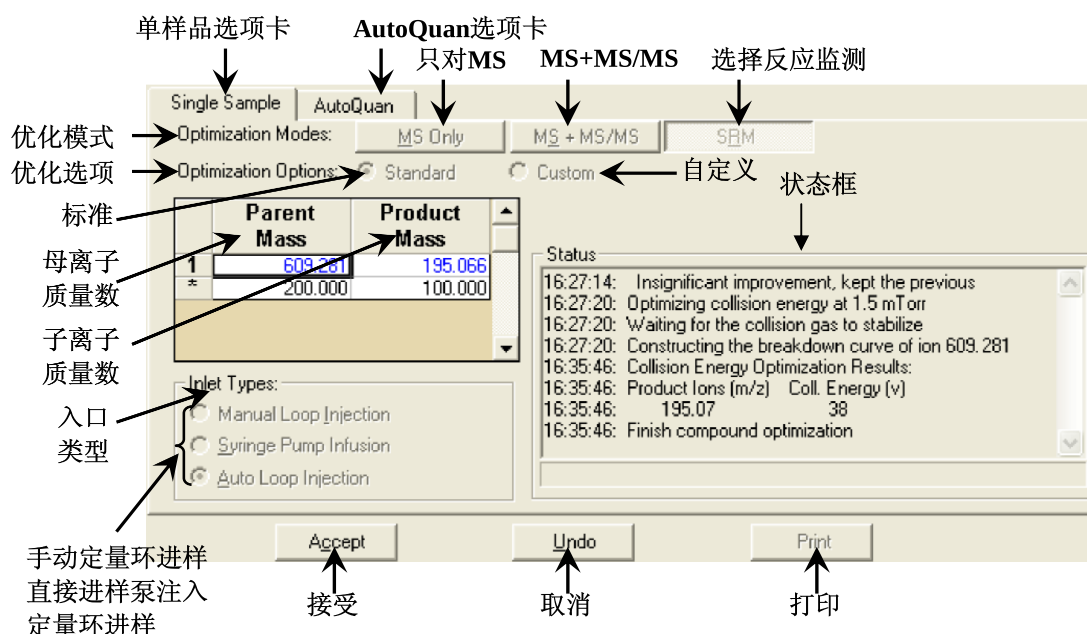


图4-11. 化合物优化视图，图中显示的是成功的完成化合物优化

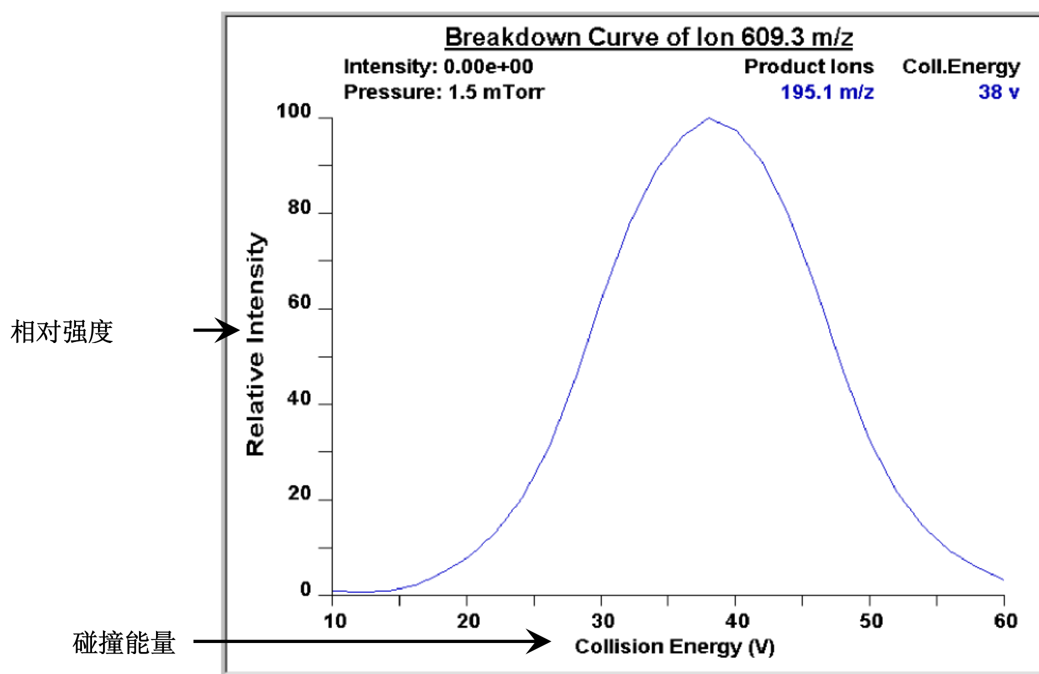


图4-12. 利血平碎裂曲线，图中以子离子在$m/z = 195.066$时的相对发射强度为碰撞能量的因变量做曲线

5. 如果在化合物优化过程中出现错误，可通过完成以下操作步骤重新载入以前的对化合物敏感的装置的质谱仪设置：
   a. 点击**Undo**（撤消）按钮载入以前的装置设置。
   b. 点击**Accept**（接受）按钮将以前的装置设置重新载入到质谱仪。
   c. 处理纠正引起优化过程失败的问题。
   d. 转到本过程的步骤4并且重新开始化合物优化进程。
6. 点击**Accept**（接受）按钮接受化合物优化的结果。

> **注意：**如果离子源参数与其初始设置有任何改变，请在质谱仪为开机状态时保存调谐方法。

7. 通过如下操作保存Tune Method（调谐方法）文件：
   a. 点击**Save Tune As**（调谐方法另存为）打开Save As（另存为）对话框。
   b. 在File Name（文件名称）文本框中为自己的调谐方法输入一个文件名（例如**ESI_reserpine**，或者用户所用化合物的名称)。
   c. 点击**Save**（保存）按钮保存Tune Method（调谐方法）。

      如果用户在步骤7.b中输入的文件名已经存在，会弹出一个信息框讯问用户是否替换已有文件。

      - 如果希望覆盖已有文件，点击**Yes**（是）。
      - 如果不希望覆盖已有文件，点击**No**（否）。然后在File Name（文件名称）框中输入新的名称，并点击**Save**（保存）。

现在质谱仪已经在ESI/MS/MS模式下以化合物利血平（或者用户所用的化合物）进行过优化。

请转到下一章：**使用Tune Master采集ESI/MS/MS数据。**

第5章 使用Tune Master采集ESI/MS/MS数据

利用Tune Master数据采集，用户必须具备以下条件：

- 安装有API源
- 配备有进样系统
- 仪器校准过
- 已经为自己的目标分析物建立了一个Tune Method（调谐方法）

本章为用户提供了如何利用Tune Master在ESI/SRM模式下采集样品数据的信息。本章实验采用的是利血平，用户可以按同样的步骤对目标分析物进行操作。

本章包括以下部分：

- 在ESI模式下开始通过手动定量环进样引入样品
- 在SRM扫描模式下采集ESI/MS/MS数据

5.1 在ESI模式下开始通过手动定量环进样引入样品

本部分讲述了如何通过手动定量环进样将样品引入来自LC的流动相，从而将样品引入质谱仪。通过手动定量环进样引入样品的ESI管线连接如图5-1所示。

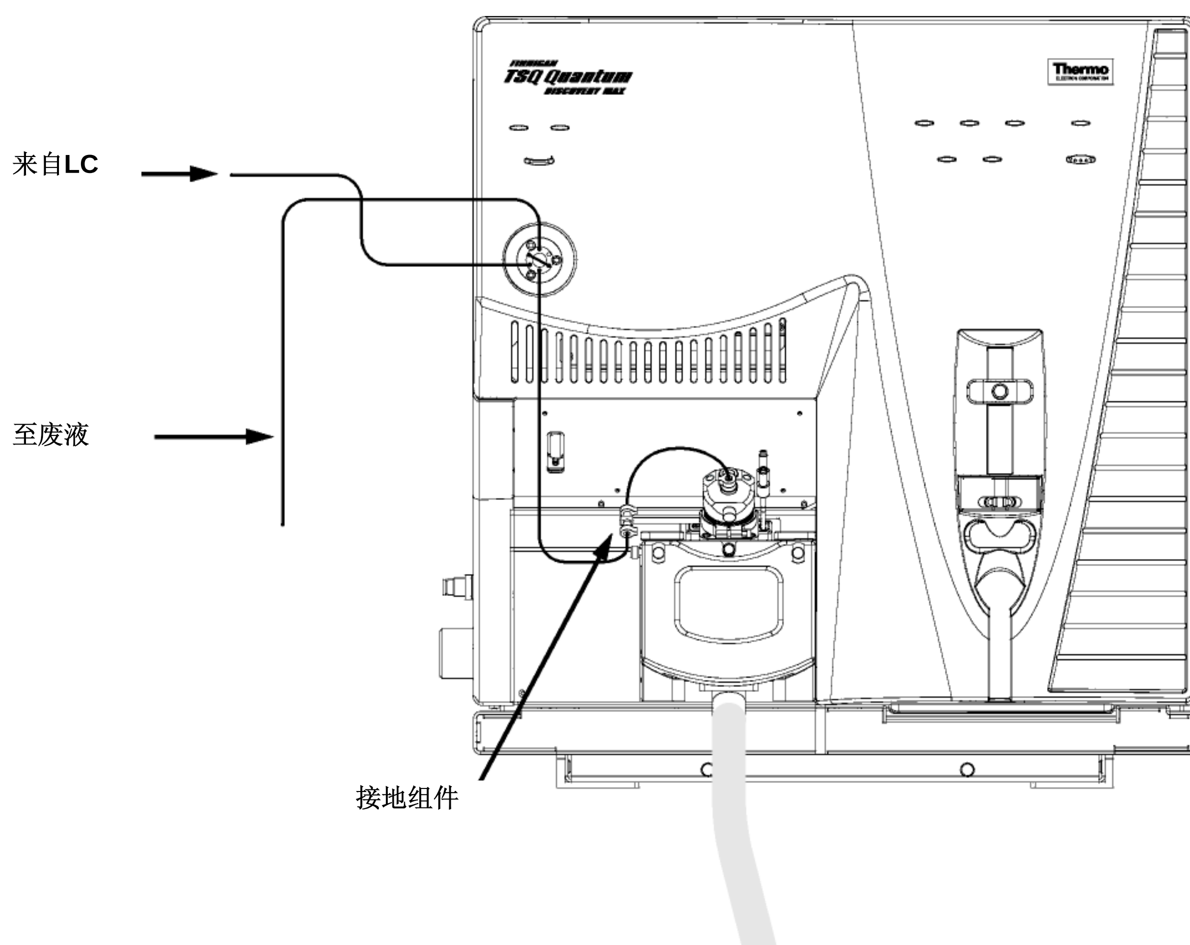


图5-1. 通过手动定量环进样将样品引入LC流动相的ESI/MS管线连接

按如下步骤连接手动定量环进样管线：

1. 关闭流入ESI源的流动相：





   a. 在Tune Master中的Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏上点击AS/LC Direct Control（AS/LC直接控制）按钮，在工作区域右上角显示Inlet Direct Control（入口直接控制）视图，见图5-2。

   b. 在Direct Control Panel（直接控制面板）群组框中，点击Stop（停止）按钮关掉流动相。

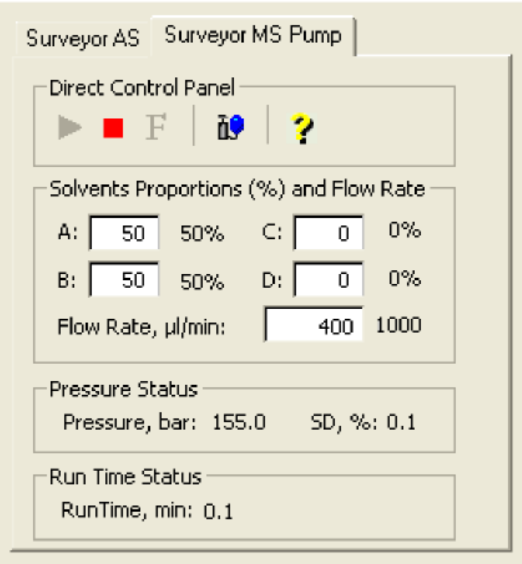


图5-2.　入口直接控制视图，图中显示泵为开启状态


开启


待机

2. 在Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏上点击On/Standby（开机/待机）按钮，将质谱仪置于待机状态。

3. 将注射器从注射泵夹具上拆卸下来：

   a. 在按下注射泵手柄上的黑色释放按钮的同时将手柄抬离注射器。

   b. 取下注射器。

   c. 将注射器针头端部从注射器接头组件上的Teflon管端取下，见图5-3。

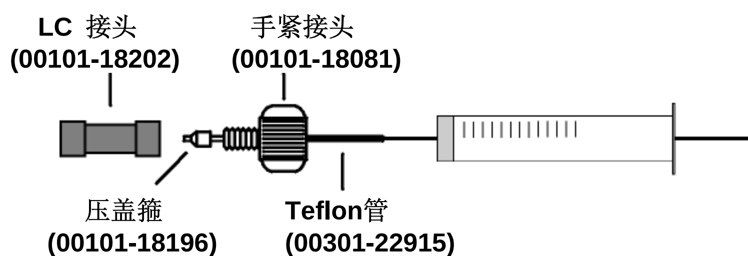


图**5-3.** 注射器和注射器接头组件

4. 拆除安装在注射器接头组件和转向/进样阀5号端口之间的样品传输管线。5号端口现在用作进样端口，见图5-4。

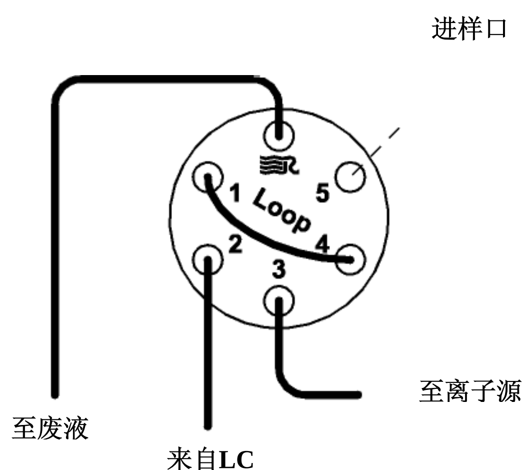


图**5-4.** 转向**/**进样阀，图中显示的是手动定量环进样的管线连接

5. 将针头端口接头安装至转向/进样阀：

   a. 将衬管、RheFlex®压盖箍和RheFlex螺母的丝锥部分插入转向/进样阀的5号端口（见图5-5）。
   b. 用手小心旋紧螺母。

现在质谱仪已经装配好，可以实现手动定量环进样。

转到下一部分：**在SRM扫描模式下采集ESI/MS/MS数据。**

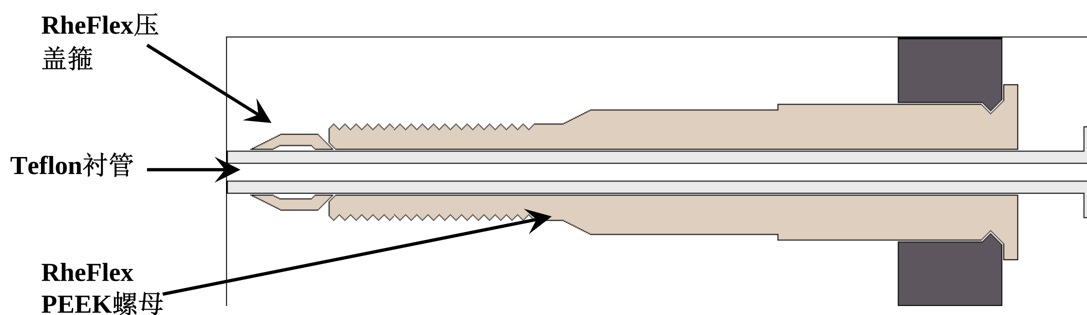


图5-5. 针头端口接头，**P/N 00110-22030**

5.2 在SRM扫描模式下采集ESI/MS/MS数据

按照下列步骤生成SRM扫描模式下的利血平数据文件。Tune Master自动将用户所采集的数据保存在硬盘上。

1. 在Tune Master中点击Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏上的On/Standby（开机/待机）按钮，打开质谱仪。


开机


待机

- 如果用户希望使用当前显示的Tune Method（调谐方法）数据采集，请转到步骤3。
- 如果用户希望使用当前显示的Tune Method（调谐方法）之外的其它方法数据采集，首先需按步骤2所述，打开需要的Tune Method（调谐方法）。

2. 打开存储有利血平校准设置的Tune Method（调谐方法）文件，或者根据待测物进行必要的设置：

   a. 在File / Display（文件/显示）工具栏中点击Open File（打开文件）按钮，显示Open（打开）对话框。



   b. 确认当前显示的是*C: \Xcalibur\methods*文件夹，选择*ESI_reserpine.TSQTune*文件（或者用户自己的Tune Method（调谐方法））。

   c. 点击**Open**（打开）按钮，打开该文件。Tune Master将Tune Method（调谐方法）设置下载至质谱仪。

3. 开启流动相：



   a. 在Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏上点击AS/LC Direct Control（AS/LC直接控制）按钮，在工作区域右上角显示Inlet Direct Control（入口直接控制）视图，见图5-6。

> **注意：**下面的步骤假定装有异丙醇和HPLC级用水的溶剂瓶标签分别为A和B。

   b. 将Surveyor MS Pump（Surveyor质谱泵）传送50:50异丙醇/水溶液的速度设置为400 µL/min：

      i. 在Inlet Direct Control（入口直接控制）视图中Solvents Proportions (%) and Flow Rate（溶剂比例（%）和流速）群组框中，标志为*A*的文本框中输入**50**指定溶剂A传送量为50%。

      ii. 在标志为*B*的文本框中输入**50**指定溶剂B传送量为50%。

      iii. 在Flow Rate（流速）文本框中输入400，指定流速为400 µL/min。

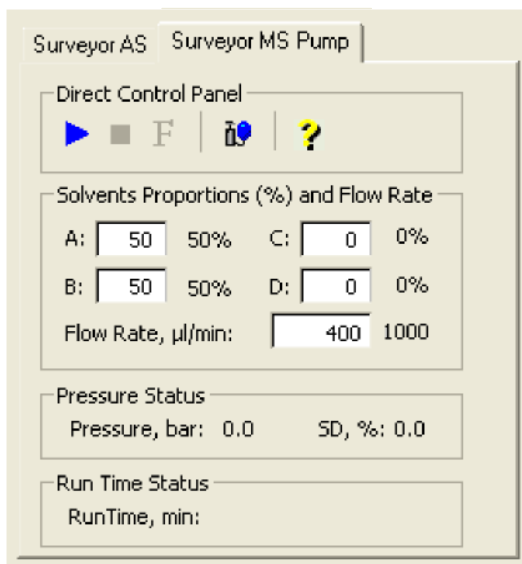


图5-6. 入口直接控制视图，图中显示泵为关闭状态



c. 在Direct Control Panel（直接控制面板）群组框中，点击Start（开始）按钮，启动Surveyor 质谱泵。



4. 在Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏上点击Instrument Method Development Workspace（仪器方法建立工作区域）按钮打开Instrument Method Development（仪器方法建立）工作区域，见图5-7。

> **注意：**如果用户刚刚按第**4**章的介绍，使用利血平完成了化合物优化，则当用户切换至Method Development(方法建立)工作区域时，系统将自动选择相关的默认设置。

5. 根据需要按下列步骤设置采集SRM数据所需的参数：

   a. 在工作区域左上角Define Scan（定义扫描）视图中选择Scan Type: SRM（扫描类型：SRM）按钮，选择Selected Reaction Monitoring (SRM) （选择反应监测）扫描类型。

   b. 确定在SRM表中列出的是单个反应，并且确认母离子质量数是609.281，子离子质量数为195.066。

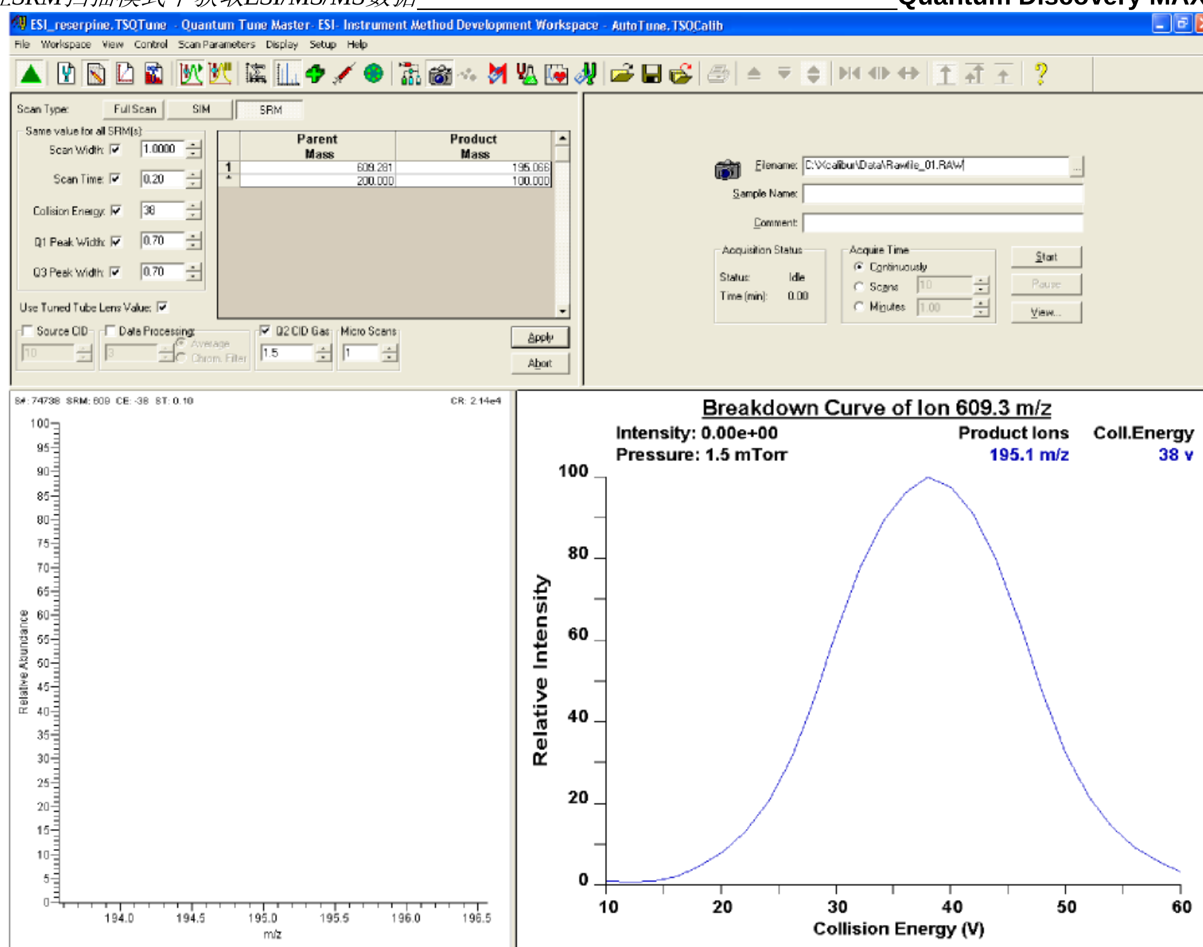


图5-7. 仪器方法建立工作区域

> **注意：**在Define Scan（定义扫描）视图中，Same Value For All SRM(s)（所有SRM使用相同值）群组框允许用户为自己的SRM扫描选择全局参数。用户定义为“全局”的任意参数，在用户监测的每个反应中都使用相同的值。要定义一个全局参数，选择参数复选框，并可以通过微调框设置其值。

c. 在Same Value For All SRM(s)（所有SRM使用相同值）群组框中，确保选中所有全局参数复选框，核实或者在相应的微调框中输入如下值：

   i. 在Scan Width（扫描宽度）微调框中输入**1.000**，将扫描宽度设置为1.000 u。

   ii. 在Scan Time（扫描时间）微调框中输入**0.20**，将扫描时间设置为0.20 s。

iii. 核实Collision Energy（碰撞能量）微调框中的碰撞能量显示值近似地等于用户先前进行化合物优化时的输入值-38。(自动优化可能会改变碰撞能量值。)

iv. 在Q1 Peak Width（Q1峰宽）微调框中输入**0.70**，将峰宽设置为 0.70 u。

v. 在Q3 Peak Width（Q3峰宽）微调框中输入**0.70**，将峰宽设置为 0.70 u。

d. 选中Use Tuned Tube Lens Value（使用校准过的透镜值）复选框。

e. 确保没有选中Source CID（源内CID）复选框。

f. 指定3 s chromatography filter（3s色谱过滤器）采集数据：

i. 选中Data Processing（数据采集）复选框，激活数据采集微调框和选项按钮。

ii. 选择Chrom. Filter（色谱过滤器）选项按钮，指定所用的色谱过滤器。

iii. 在Data Processing（数据采集）微调框中输入**3**，指定一个3 s chromatography filter（3s色谱过滤器）。

g. 碰撞室气体设置：

i. 在Q2 CID Gas（Q2 CID气体）群组框中选择Q2 CID Gas（Q2 CID气体）复选框，指定所用的碰撞气体。

ii. 在Q2 CID Gas（Q2 CID气体）微调框中输入**1.5**，将碰撞室气体压力设置为1.5 mTorr。

h. 确认Micro Scans（微扫描）设置为1。

6. 点击**Apply**（应用）按钮，应用所设置的扫描参数。



7. 在Control / Scan Mode（控制/扫描）工具栏上，点击Display TIC（显示TIC）按钮，在工作区域右下角的Graph（谱图）视图中记录全部的离子流，见图5-8。

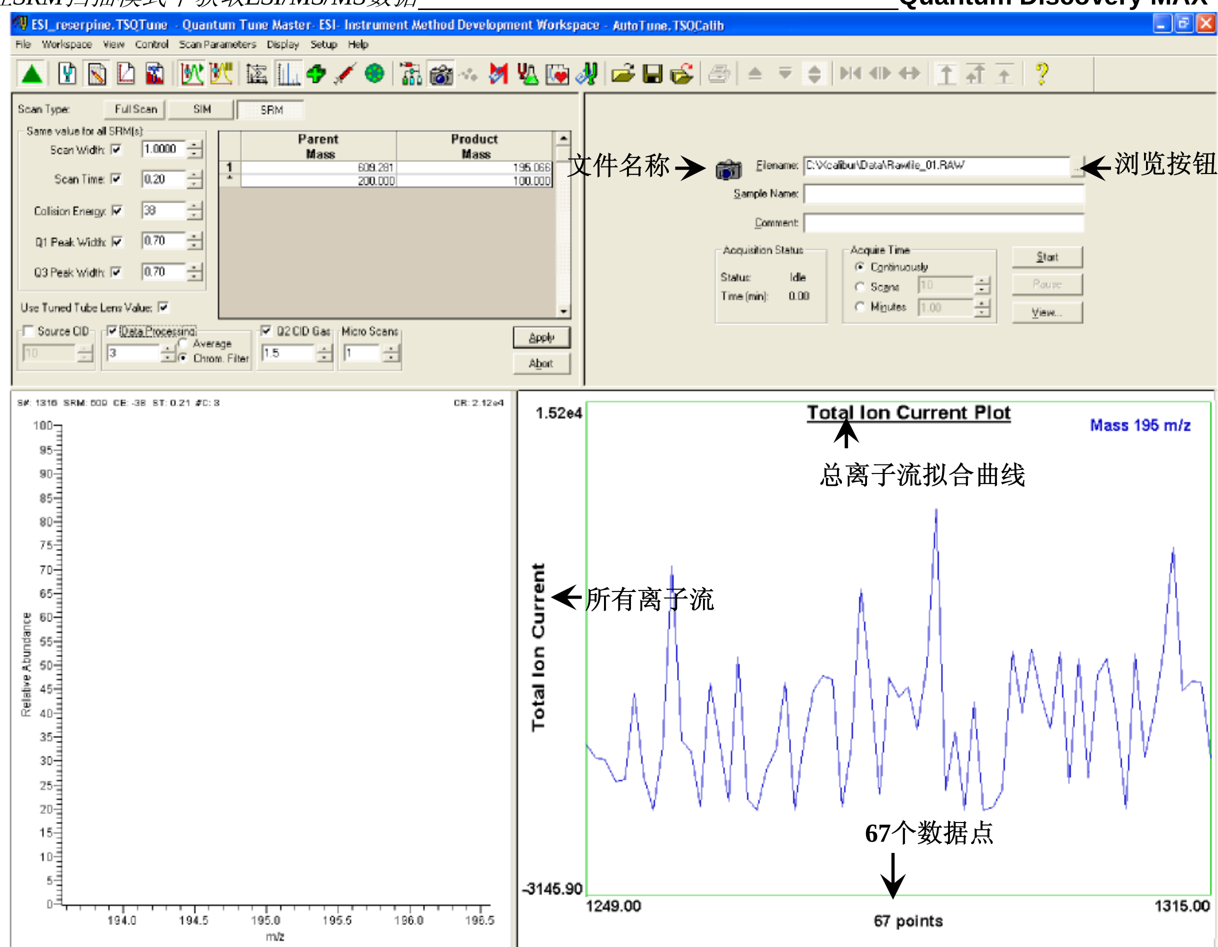


图5-8. 仪器方法建立工作区域，图中显示的是SRM扫描类型

8. 指定数据采集参数：

   a. 在工作区域右上角Acquire Data（数据采集）视图中的Filename（文件名称）文本框中输入**C:\Xcalibur\Data\reserpine_01.raw**指定路径和文件名。(用户可以使用浏览按钮选择不同的文件夹。)

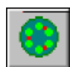


浏 览

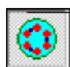
   b. 在Sample Name（样品名称）文本框中输入**reserpine**指定样品名称。如果用户使用的不是利血平，在此键入用户被测物的名称。

   c. 在Comment（注释）文本框中输入对实验的注释。例如，输入**SRM，ESI，10 pg，loop**标明扫描模式，离子化模式，样品量和进样方式。Xcalibur将注释信息存入用户数据的硬拷贝。

   d. 在Acquire Time（数据采集时间）群组框中，选择Continuously（连续）选项按钮，指定除非用户停止，数据采集进程将不间断进行。



进样/检测器



进样/废液

9. 在Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏上，确保Divert/Inject Valve（转向/进样阀）按钮处于Load（进样）状态。如果Divert/Inject Valve（转向/进样阀）按钮处于Inject（注射）状态(如左图所示)，点击Divert/Inject Valve（转向/进样阀）按钮将Divert/Inject Valve（转向/进样阀）切换至Load（进样）位置。

10. 在Acquire Data（数据采集）视图中，点击**Start**（开始）按钮开始数据采集，并将数据保存至*reserpine_01.raw*文件中。如果在指定的文件夹中已经存同名文件，则Tune Master会在文件名后顺序添加一串表示时间和日期的数字，如*C:\Xcalibur\Data\reserpine_010502092159.raw*。

> **注意：**为将交叉污染的可能降低到最小，调谐校准溶液、样品溶液和化合物优化溶液，请使用不同的注射器和不同的样品传输管。

11. 使用利血平溶液充填定量环：

   a. 确保盛有420 μL浓度为2 pg/μL利血平溶液的注射器已安装好。(利血平溶液的配制步骤请参见**附录A：溶液配制**。)

> **注意：**为将交叉污染的可能降低到最小，在重新将注射器插入注射器接头组件中前，一定要用不含麻的棉纸擦拭注射器的端部。

   b. 小心地将注射器针头端部插入针头端口上的Teflon管的一端。

   c. 用注射器内的利血平溶液过量充填定量环。

12. 按下TSQ Quantum Discovery MAX质谱仪前面板上的蓝色Divert/Inject Valve（转向/进样阀）按钮，将利血平溶液注入LC溶剂流动相。

13. 在Spectrum（谱图）视图中观察利血平产物在*m/z*＝195.066时的峰，或者用户目标分析物的峰。

14. 重复几次下列步骤，在SRM扫描模式下得到利血平的定量环进样谱图。每次注射间隔大约等待1分钟。

   a. 按下TSQ Quantum Discovery MAX质谱仪前面板上的蓝色Divert/Inject Valve（转向/进样阀）按钮，使Divert/Inject Valve（转向/进样阀）回到Load（进样）位置。用2 pg/μL的利血平溶液过量充填定量环。

   b. 再次按下Divert/Inject Valve（转向/进样阀）按钮，将利血平溶液引入LC流动相。然后观察Spectrum（谱图）视图。

   c. 大约等待1分钟后进行下一次注射。

   d. 重复步骤14.a到14.c几次。

15. 在Acquire Data（数据采集）对话框中点击**Stop**（停止）按钮，中止数据采集，见图5-9。

    此时，在SRM扫描模式下的利血平数据文件被存储在硬盘上(文件名类似*reserpine_010502092159. raw)*。

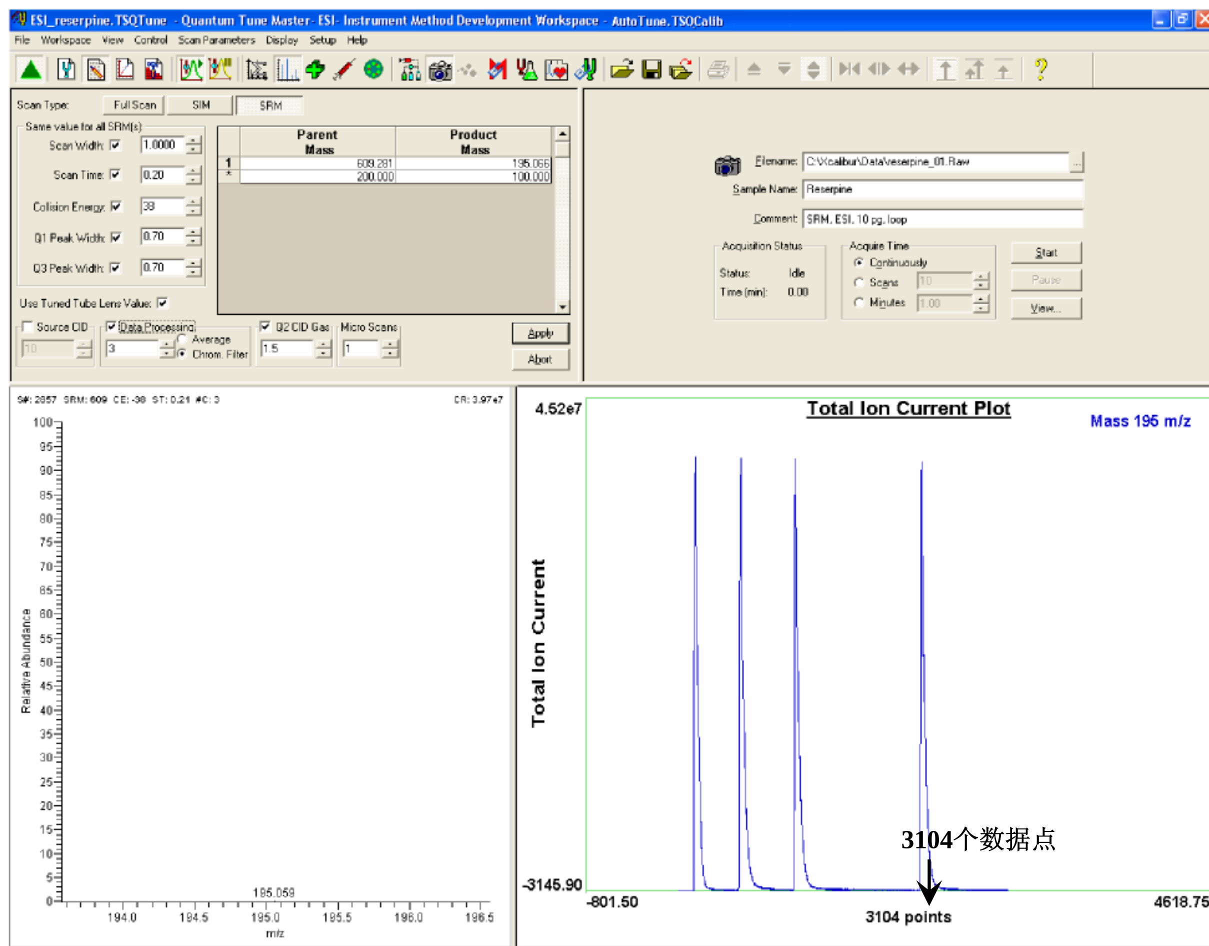


图**5-9.** 仪器方法建立工作区域，图中显示的是在**SRM**扫描模式下采集数据

> **注意**：关于用户利用TSQ Quantum Discovery MAX系统的Xcalibur所采集的数据的更多信息，请参见**Finnigan Xcalibur Getting Productive: Qualitative Analysis.**（定性分析）

16. 点击**View**（查看）按钮，在Xcalibur Qual Browser（Xcalibur定性分析查看器）窗口中查看刚得到的原始文件中的色谱图，见图5-10。

如果希望使用APCI源数据采集，用户必须首先按下一章：**在APCI/MS/MS模式下数据采集的离子源的设置**中介绍的方法更换API源。

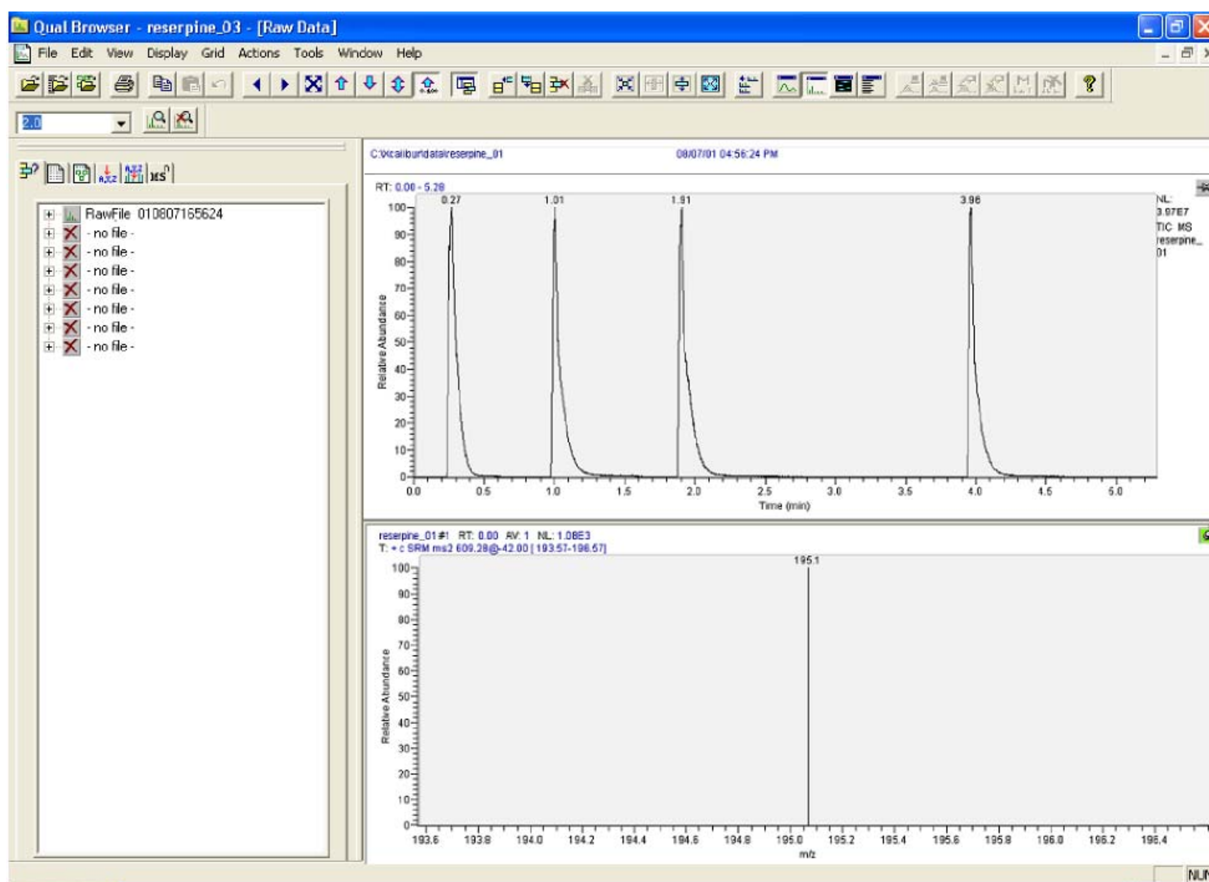


图5-10. 定性分析查看器窗口，图中显示的是利血平*m/z*＝195.066时定量环进样轮廓图(上)和棒状图(下)

第6章
在APCI/MS/MS模式下设定离子源以采集数据

本章主要介绍在APCI/MS/MS模式下采集数据的离子源设置。

本章包括以下部分：

- 拆卸ESI探头
- 拆卸Ion Max离子源外壳
- 拆卸离子吹扫锥
- 安装Ion Max离子源外壳
- 安装APCI探头

6.1 拆卸ESI探头

按如下步骤拆卸ESI源：

1. 将LC/MS系统置于待机状态：

a. 停止流向ESI源的流动相：

i. 在Tune Master中的Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏上点击AS/LC Direct Control（AS/LC直接控制）按钮，在工作区域右上角显示Inlet Direct Control（入口直接控制）视图。见图6-1。

ii. 在Direct Control Panel（直接控制面板）群组框中点击Stop（停止）按钮，关停流动相。

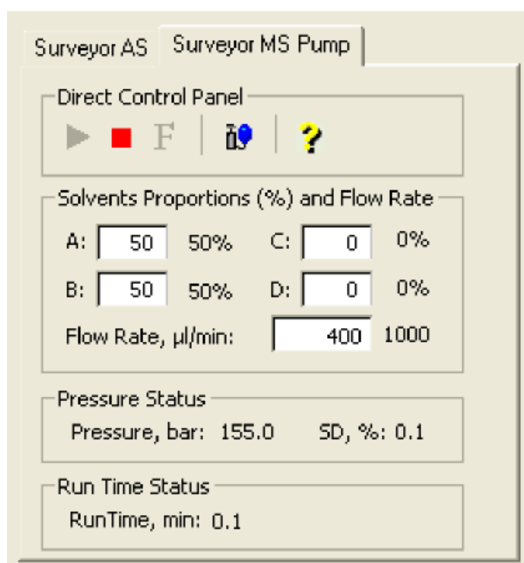


图6-1. 入口直接控制视图，图中显示泵为开启状态

b. 关闭喷雾电压：

i. 选择**Display**（显示）**> Compound Dependent Devices**（化合物敏感装置），在工作区域右上角显示Optimize Compound Dependent Devices（优化化合物敏感装置）视图，见图6-2。

ii. 在Device（装置）微调框中输入**0**，将喷雾电压设置为0 V。

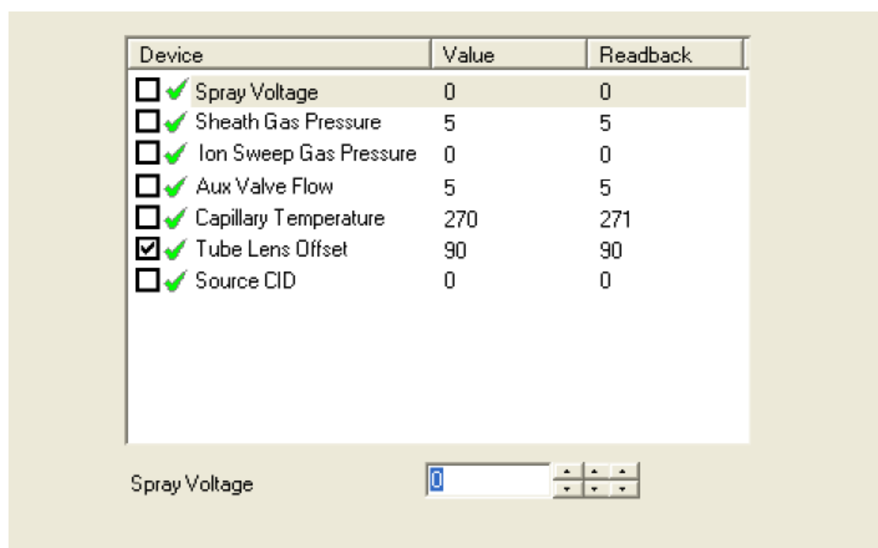
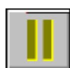


图6-2. 优化化合物敏感装置视图


开启


待机

c. 在Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏上点击On/Standby（开机/待机）按钮，使质谱仪处于待机状态。

> **注意：**如果ESI探头没有安装进样管(熔融石英毛细管)和安全套管，需要遵从以下步骤安装进样管和PEEK安全套管。在**Finnigan Ion Max API**源硬件手册中的**安装新的熔融石英进样管和PEEK安全套管**部分有相关描述。

2. 将样品传输管从不锈钢ZDV接头（接地组件）上拆卸下来，见图6-3。
3. 从ESI探针的高压插座上拆下8 kV电缆(见图6-3)：
   a. 逆时针方向旋转锁环，将电缆锁打开。
   b. 将8 kV电缆从ESI探针高压插座上拔出。
4. 将辅助气接头（绿色）从探头管线的辅助气入口（A）上卸下（图6-3）。
5. 将鞘气接头（蓝色）从探头管线的鞘气入口（S）卸下。
6. 将不锈钢ZDV接头（接地组件）从离子源外壳上的接地杆上卸下。

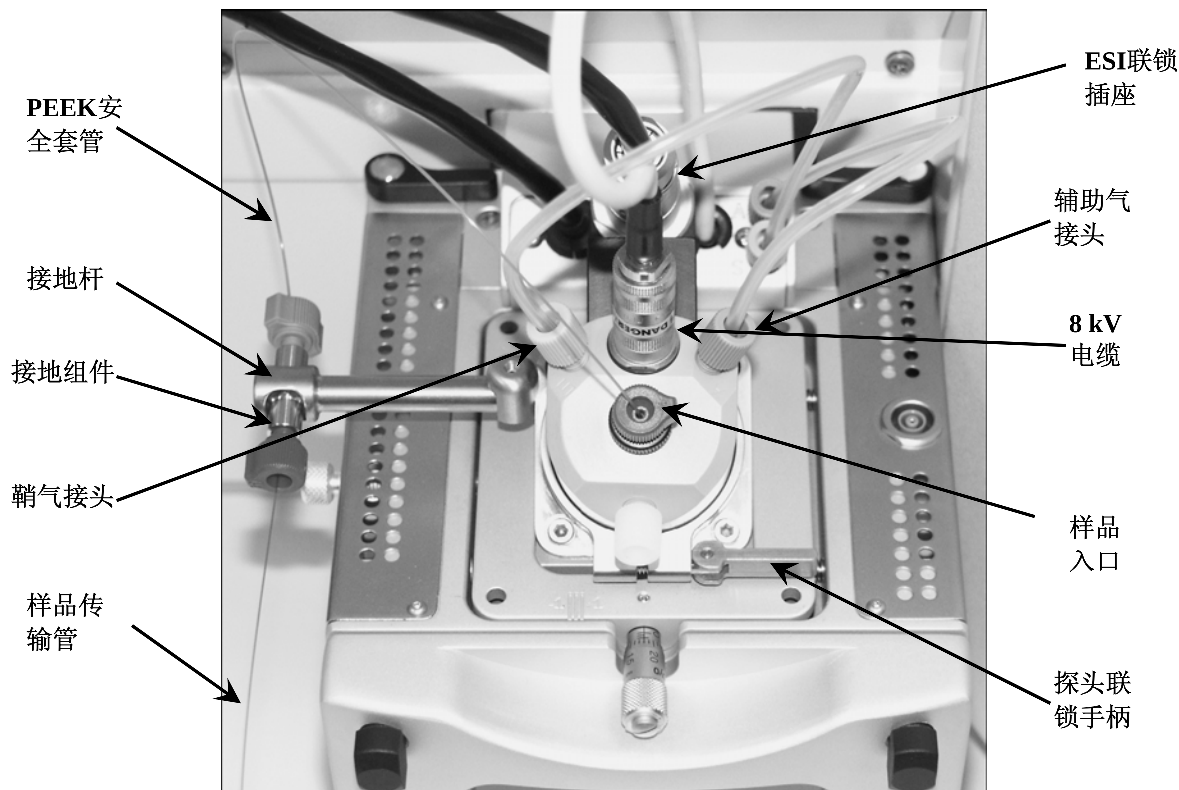


图6-3. 装有ESI探头的Ion Max离子源外壳

7. 将联锁手柄扳至最大位置，打开探头联锁手柄。

8. 将在外壳内的探头端口小心地向后拉，直到与ESI联锁组件的插槽接合。探针复式接头的导向销可避免扭弯探针，保证针脚与ESI联锁组件的插槽对齐。

   探头全部拔出并且与插槽对齐之后，按逆时针方向转动探头，将探头从定位凹槽中取出。一定要小心不能损坏熔融石英样品管或者PEEK(聚醚醚酮)安全封套。

9. 直拉探头，将探头从离子源外壳取出。

10. 将ESI探头保存在原来的包装盒内。

6.2 拆卸Ion Max离子源外壳

要安装/拆卸离子吹扫锥，需要拆除离子源外壳。

按如下步骤拆卸离子源外壳：

1. 拆除离子源外壳上的废液管。见图6-4。
2. 将离子源外壳上的联锁手柄旋转90度，打开离子源装配组件上的离子源外壳。
3. 直拉离子源装配组件上的离子源外壳，将其拆除。然后，将离子源外壳暂时放在比较安全的地方。

请转到下一部分：**安装**离子吹扫锥**.**

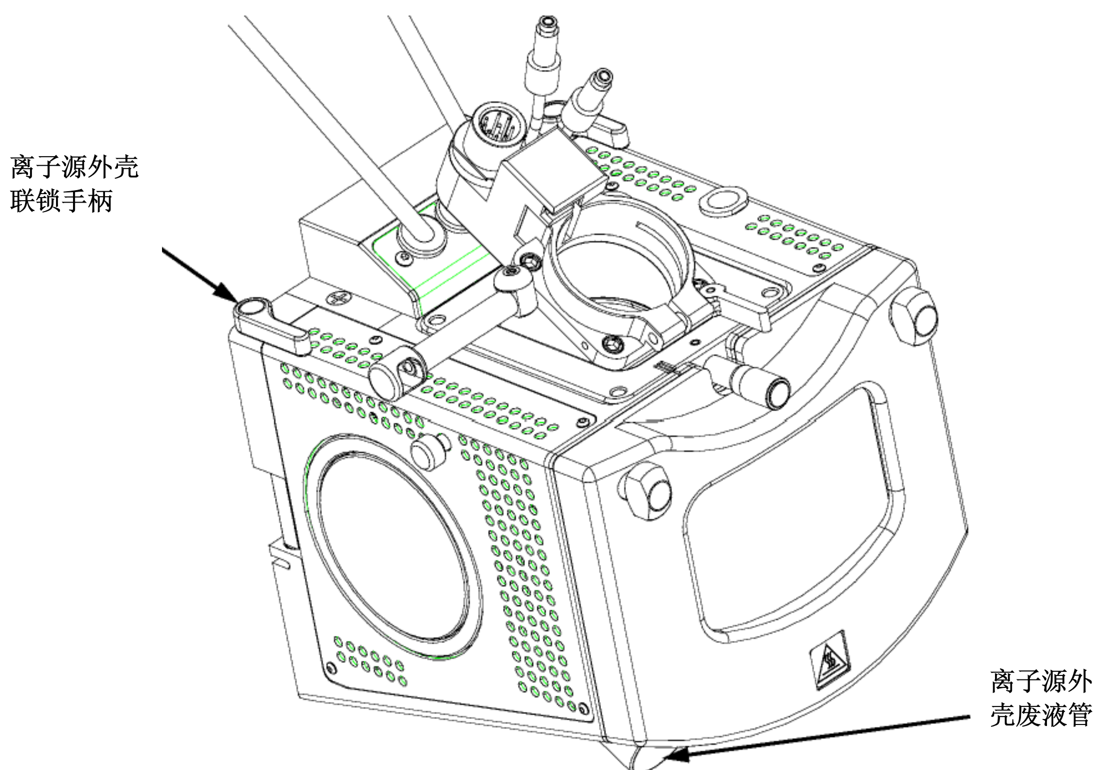


图6-4. Ion Max离子源，详细构造

6.3 拆卸离子吹扫锥

APCI运行不需要使用离子吹扫锥。按如下步骤拆卸离子吹扫锥：

1. 戴上一双不含滑石粉的手套。



警告：避免烫伤。在运行温度下，离子传输导管可能严重地烫伤人体!离子传输导管的工作温度通常为200到400 °C。**在安装离子吹扫锥之前，一定要将离子传输导管冷却至室温(大约需要20分钟)。**一定要注意，当离子传输导管暴露在空气中时，不要触摸其端部。

2. 抓住离子吹扫锥外缘突起部分，将锥体直拉出API锥体封套。
3. 将离子吹扫锥保存在其原包装内。请转到下一部分：**安装Ion Max离子源外壳。**

6.4 安装Ion Max离子源外壳

本部分介绍如何安装质谱仪的Ion Max离子源外壳。

按下列步骤重新安装Ion Max离子源外壳：

1. 仔细将离子源外壳背面的两个导向针孔与质谱仪离子源外壳上的导向针对齐，然后小心按压，将离子源外壳安装到离子源组件上。见图6-5和图6-6。

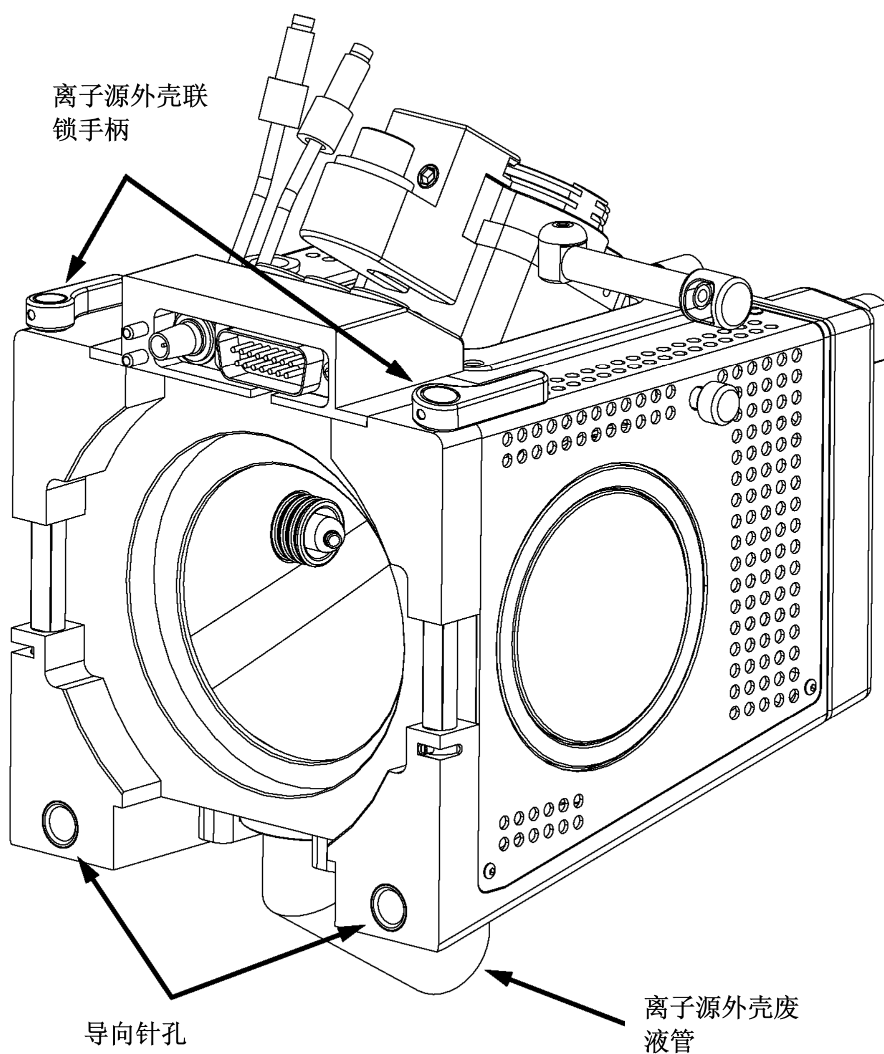


图6-5. Ion Max离子源外壳后视图

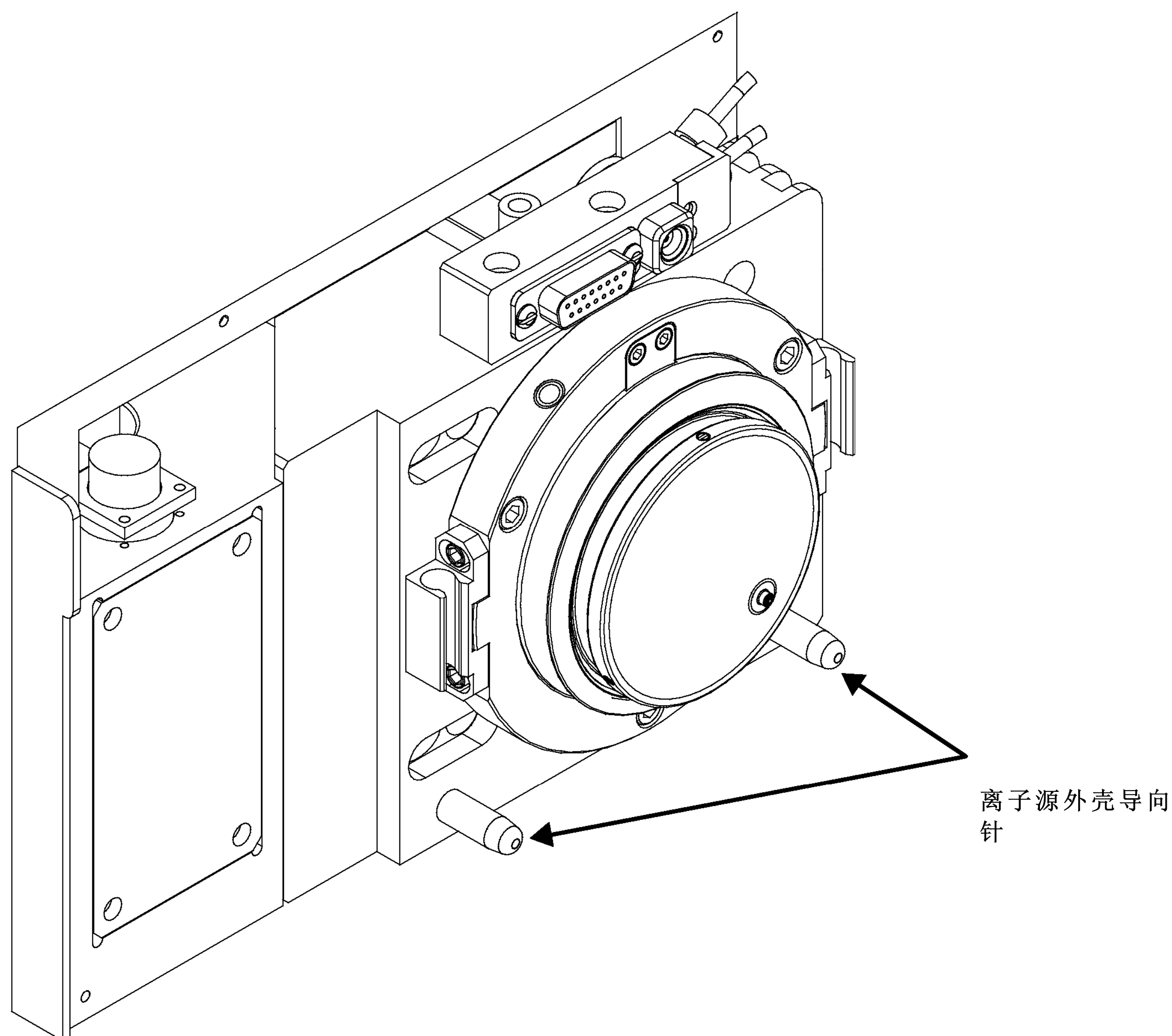


图6-6. 离子源组件，图中显示了离子源外壳导向针

2. 将离子源外壳联锁手柄旋转90度，把离子源外壳锁在离子源组件上。

小心：防止溶剂废液回流到离子源和质谱仪。一定要确保废液管中的液体可以排放到废液容器中。

小心：不要将API源废液管(或者连接到废液容器的其它排放管)排放到与前置真空泵/预抽真空泵相同的通风系统中，如果API源的废液管与前置真空泵/预抽真空泵的排放管(蓝色)连接到同一通风系统，可能会污染分析仪的光学系统。
用户的实验室至少配备有两套以上的通风系统。前置真空泵/预抽真空泵的排放管(蓝色)应该安放于一套专用的通风系统中。将API源的废液管连接到废液容器中。废液容器应放置于专用通风系统中。

3. 重新安装离子源废液管：

   a. 将内径为1英寸的Tygon®管(P/N 00301-22922)连接到离子源外壳废液管接头上。

   b. 将软管的另一端连接至废液容器。最为理想的情况是，废液容器应该安放到通风系统中。

Ion Max离子源已经正确地安装在质谱仪上。转到下一部分：**安装APCI探头**。

6.5 安装APCI探头

本部分介绍如何将APCI探头安装至Ion Max离子源外壳。
按如下步骤安装APCI探头：

1. 安装电晕放电针：



警告：避免受伤。电晕放电探针非常尖利，可能刺穿皮肤，拿时请小心。

a. 将离子源外壳门锁转动90度，使门锁手柄水平，打开外壳门。

b. 打开离子源外壳门。

c. 用钳子夹住探针镀金接头部分，垂直下压，将探针插入插座。见图6-7。

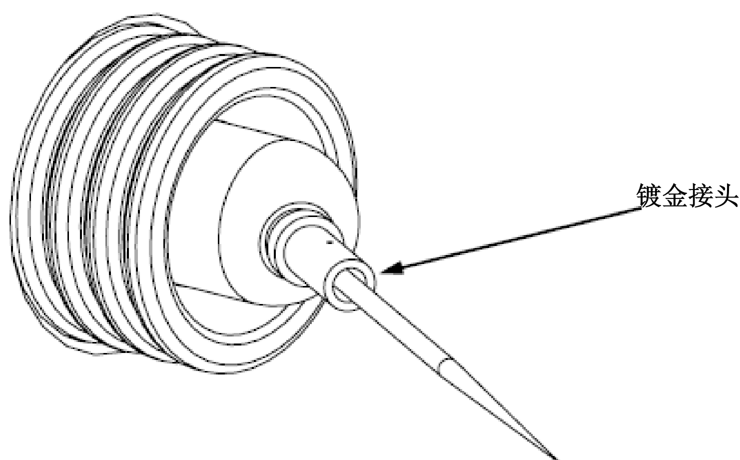


图2-4. 电晕放电探针，后视图

d. 确保针头端部与APCI探头和仪器上离子源界面之间的通道对齐。

e. 关闭并锁好离子源外壳门。

2. 将8 kV电缆连接至电晕放电针高压插座上：
   a. 将8 kV电缆插入离子源外壳右上方的电晕放电针高压插座上。
   b. 顺时针旋转锁环锁住电缆。
3. 在尝试安装探头前，确保探针联锁手柄已打开（最大开启位置）。

4. 将APCI探针插入离子源外壳上的端口，对齐探针体上的导向针，与ESI联锁组件成45度角，见图6-8。

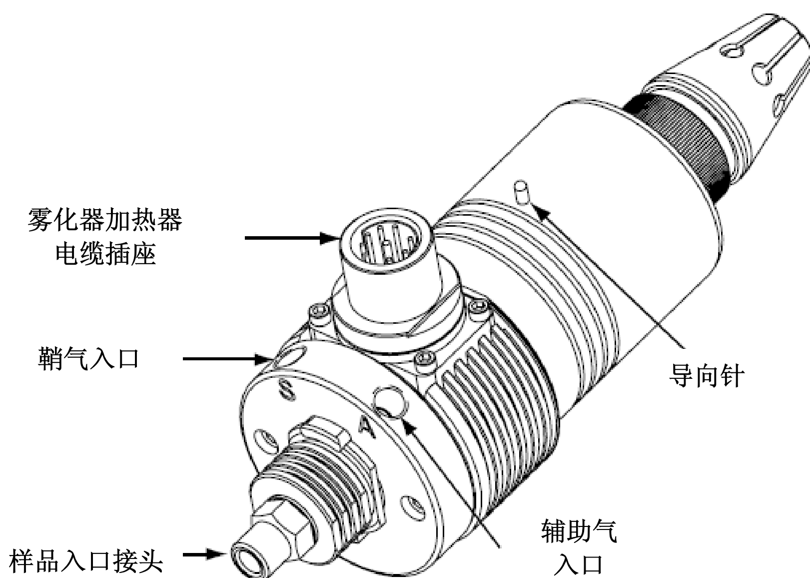


图6-8. APCI探头

5. 将探头按压至端口，直到导向针触到外壳上的锁环。
6. 顺时针旋转探头45度，将导向针与ESI联锁组件上的插槽对齐(可能需要向使用者的方向轻轻拉一下，才能正确地将针脚与针孔对齐)。当探头转动到一定程度，即针脚与接口后面的对齐针孔对齐后，直接按压探头，直到导向针停止于对齐针孔底端。
7. 将探头一直固定在对准凹槽中。
8. 向外壳前方旋转探头联锁手柄，将探头固定住，如果向离子源外壳后方扳动手柄可能导致将来手柄难以打开。
9. 将雾化器加热器电缆从离子源外壳上的ESI联锁插头上拔出。
10. 将雾化器加热器电缆连接至APCI探头上的雾化器加热器插座。
11. 将辅助气管线（绿色接头）连接至APCI探头上标有***A***的辅助气入口。
12. 将鞘气管线（蓝色接头）连接至APCI探头上标有***S***的鞘气入口。

13. 将样品传输管连接至APCI探头上的入口。

此时，APCI源已正确安装在质谱仪上。

警告：防止溶剂废液回流到离子源和质谱仪。一定要确保废液管中的液体可以排放到废液容器中，并且废液管出口要在废液容器内液面的上方。

注意：在使用APCI源进行样品分析前，需要在Tune Master中将测试模式改为APCI源模式。下次打开TSQ Quantum Discovery MAX质谱仪时，选择**Setup (设置)> Change Ion Source (更改离子源)> APCI**，将Tune Master置于APCI源模式下。

保持LC/MS系统在待机状态，然后转到下一章：**在APCI/MS/MS 模式下使用用户自己的化合物优化质谱仪**。

第7章

在APCI/MS/MS模式下使用用户自己的化合物来优化质谱仪

本章主要介绍了如何在APCI/MS/MS模式下，以用户被测物作为校准化合物，精细校准质谱仪。用户通过自动校准程序优化质谱仪对用户的被测物的灵敏度。

TSQ Quantum Discovery MAX系统给出的Tune Methods（调谐方法）应用范围很广。一般不必进一步校准质谱仪即可应用这些方法。但是，对某些应用用户可能需要优化一些质谱仪参数。例如，下面一些影响APCI表现和信号质量的参数：

- 放电电流
- APCI汽化温度
- 鞘气压力
- 辅助气流速
- 毛细管温度
- 透镜电压

这些参数的最佳设置取决于流动相流速和用户被测物的结构。通常，无论何时用户因为某些特定的应用而更改流动相流速条件，就需要对质谱仪参数进行精细校准。当用户使用自动校准步骤优化质谱仪参数时，该进程就会调节上述所有参数和离子棱镜系统的电压，直到用户被测物的离子传输效率达到最大。

> **注意：**确保在使用用户自己的化合物优化校准之前，在过去的三个月内对TSQ Quantum Discovery MAX质谱仪进行过调谐校准。如果需要调谐校准系统，请参见**第3章：在ESI/MS/MS模式下调谐校准质谱**中的步骤。

请按照本章中介绍的如下步骤，在APCI/MS/MS模式下为用户的化合物优化质谱仪：

- 设置注射泵和转向/进样阀，以进行定量环进样。
- 在Tune Master中为用户特定的化合物设置质谱仪。
- 运行自动化合物优化步骤精细校准与化合物敏感的质谱仪参数。
- 保存新的Tune Method（调谐方法）。

本章包括以下部分：

- 在APCI模式下开始通过自动定量环引入样品
- 使用用户自己的化合物开始在APCI/MS/MS模式下进行优化
- 使用用户自己的化合物自动在APCI/MS/MS模式下进行优化

7.1 在APCI模式下开始通过定量环进样引入样品

下面给出了如何通过定量环进样引入用户的化合物的步骤。图7-1显示了从注射泵向LC流动相引入样品的APCI/MS进样系统的管线连接。

> **注意**：用户可以使用如在**附录A：溶液制备**中所提到的利血平溶液或者使用用户自己的目标化合物。

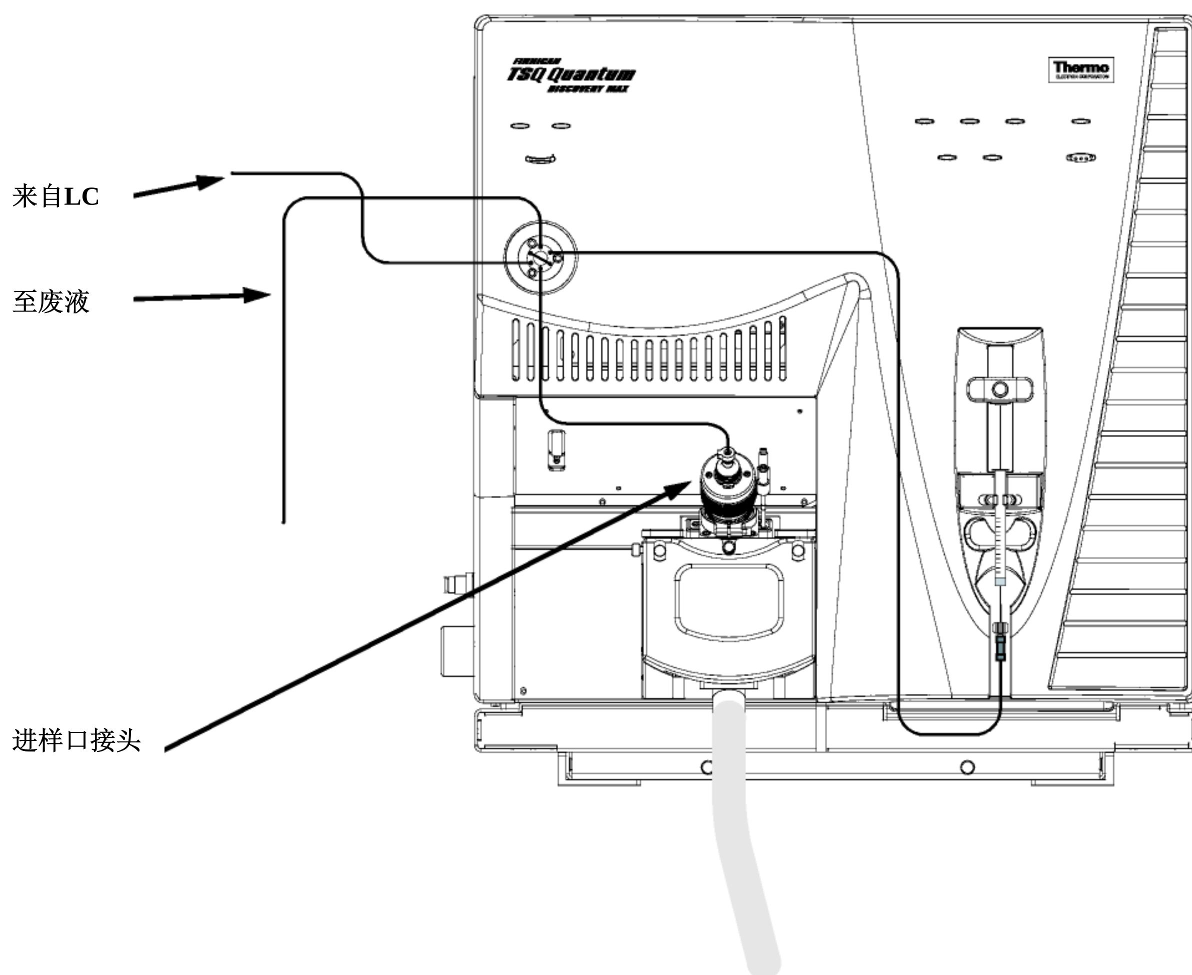


图**7-1.** 通过定量环进样向**LC**流动相引入样品的**APCI/MS**进样系统管线连接

按下列步骤连接从注射泵向LC流动相引入样品的APCI/MS进样系统的管线：

1. 将注射器从注射泵夹具上拆卸下来：
   a. 在按下注射泵手柄上的黑色释放按钮的同时将手柄从注射器上抬起。
   b. 取下注射器。
   c. 将注射器针头从注射器接头组件上的Teflon管端拆下。见图7-2。

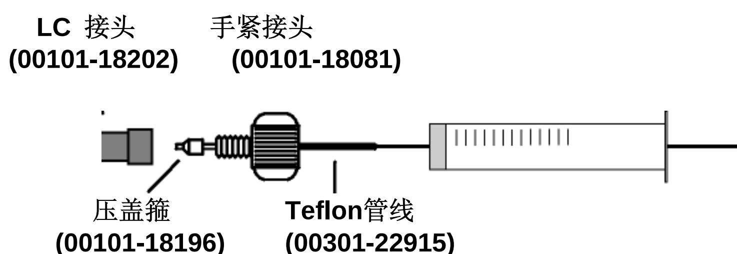


图7-2. 注射器和注射器接头组件

2. 拆卸安装在注射器接头组件和APCI探头之间的样品传输管线。
3. 在注射器接头组件和转向/进样阀之间安装一条样品传输管线：
   a. 给注射器接头组件上的LC接头连接一段适当长度的管线。
   b. 将装有螺母和压盖箍的管线的一端连接到转向/进样阀的5号端口。见图7-3。

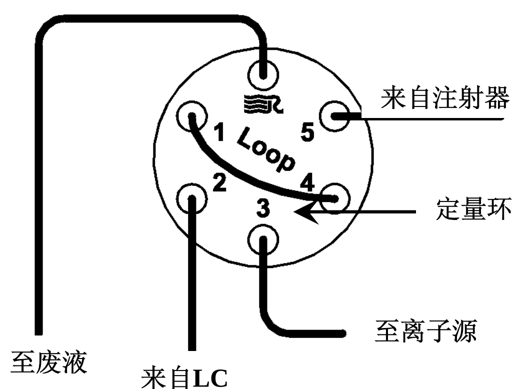


Figure 7-3. 转向/进样阀，图中显示的是定量环进样管线

注意：为将交叉污染的可能降低到最小，调谐校准溶液、样品溶液和化合物优化溶液，请使用不同的注射器和不同的样品传输管。

4. 把420 µL浓度为2 pg/µL利血平样品溶液装入洁净的500-µL的Unimetrics注射器内。(利血平溶液的配制步骤请参见**附录A：溶液配制**。)

注意：为将交叉污染的可能降低到最小，在重新将注射器插入注射器接头组件中前，一定要用不含麻的棉纸擦拭注射器的端部。

5. 握住注射器活塞适当的位置，小心地将注射器针头插入注射器接头组件上的Teflon管端部。(图7-2)
6. 将注射器装入注射泵的注射器夹具中。
7. 在按住注射泵手柄上的黑色释放按钮的同时，压下手柄，直到它刚好接触到注射器活塞。
8. 在转向/进样阀和APCI探头间安装一段样品传输管线：
   a. 聚齐必须的零件，安装样品传输管线。见图7-4。
   b. 将一段合适长度的、末端装有螺母和压盖箍的管线连接到转向/进样阀的3号端口（图7-3）。
   c. 用手紧接头和压盖箍将管线的另一端连接到进样口接头上（LC入口） (图7-1)。

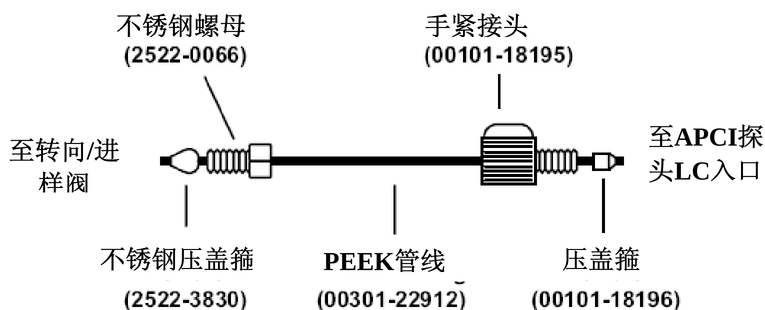


图7-4. 安装在转向/进样阀和APCI探头之间的样品传输管线

9. 在转向/进样阀的1号和4号端口间安装一个5 μL的带有螺母和压盖箍的样品定量环。

10. 在LC系统和转向/进样阀间安装一条溶剂管线：

    a. 将一段长度适当、带有接头和压盖箍的管线连接至LC系统的出口。

    b. 将带有螺母和压盖箍的管线的另一端连接至转向/进样阀的2号端口。

11. 在转向/进样阀上安装一条废液管，并将其出口连接至废液容器：

    a. 将一段长度合适、带有螺母和压盖箍的管线连接至转向/进样阀的6号端口。(6号端口用Rheodyne®的标志 ®标出)。

    b. 将管线的另一端插入废液容器。

至此，已经完成通过定量环进样引入用户的化合物的准备工作。请转入下一部分：**使用用户自己的化合物开始在APCI/MS/MS模式下进行优化。**

7.2 使用用户自己的化合物开始在APCI/MS/MS模式下进行优化

按照下列步骤设置质谱仪，在APCI/MS/MS模式下使用用户自己的化合物自动进行优化。


开启


待机

1. 在Tune Master中的Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏上点击On/Standby（开机/待机）按钮，打开质谱仪。

2. 在使用APCI源分析样品之前，Tune Master必须置于APCI源模式下。选择**Setup**（设置）**> Change Ion Source**（更改离子源）**> APCI**将Tune Master置于APCI源模式。

3. 如果希望打开一个已经存在的Tune Method（调谐方法）：



   a. 在File / Display（文件/显示）工具栏上点击Open File（打开文件）按钮显示Open（打开）对话框。

   b. 确认当前路径为*C: \Xcalibur\methods*，然后选择需要的文件。

   c. 点击**Open**（打开）按钮，打开文件。Tune Master将调谐方法参数下载到质谱仪。

4. 选择**Display**（显示）**>Compound Dependent Devices**（化合物敏感设备），在工作区域右上角显示Optimize Compound Dependent Devices（优化化合物敏感设备）视图。见图7-5。

Device	Value	Readback
☐ Discharge Current	4.0	4.0
☐ APCI Vaporizer Tempera...	500	499
☐ Sheath Gas Pressure	30	30
☐ Ion Sweep Gas Pressure	0	0
☐ Aux Valve Flow	0	0
☐ Capillary Temperature	350	350
☑ Tube Lens Offset	160	159
☐ Source CID	0	0
☐ Collision Pressure	1.5	1.5
☑ Collision Energy	-38	-38
☑ Quad MS/MS Bias	-3.0	-3.0

Discharge Current 4.0

图7-5. 优化化合物敏感设备视图，APCI设置

注意：用户可能会发现，APCI雾化器存在化学污染会产生谱图化学噪声。如果产生这种情况，则需重新清理APCI雾化器。要重新清理APCI雾化器，用户需要开启LC流动相，提高APCI汽化温度，增加鞘气和辅助气压力压力，大约30分钟可将化学污染驱除。

清理APCI雾化器的典型应用值如下：

LC 流速 = 400 μL/min
雾化温度 = 600 ℃ 鞘气压力 = 80 psi 辅助气流速 = 15 单位

5. 设置化合物敏感设备数值：

   a. 确认在Device Display（设备显示）框中选中Discharge Current（放电电流）。

   b. 在Optimize Compound Dependent Devices（优化化合物敏感设备）视图的Device（设备）微调框中输入**4.0**，将放电电流设置为4.0 μA。

   c. 设置APCI汽化温度：

      i. 在Device Display（设备显示）框中，点击APCI Vaporizer Temperature（APCI雾化器温度）。该操作将Device（设备）微调框标签改为*APCI Vaporizer Temperature（APCI雾化器温度）*并且允许用户设置APCI（雾化器）温度。

      ii. 在Device（设备）微调框中输入**500**，将雾化器温度设置为500 °C。

   d. 设置鞘气压力：

      i. 在Device Display（设备显示）框中点击Sheath Gas Pressure（鞘气压力）。

      ii. 在Device（设备）微调框中输入**30**，将鞘气压力设置为30 psi。

   e. 设置辅助气流速：

      i. 在Device Display（设备显示）框中点击Aux Valve Flow（辅助气阀流速）。

      ii. 在Device（设备）微调框中输入**0**，将辅助气流速设置为0单位。

   f. 设置离子传输导管温度：

      i. 在Device Display（设备显示）框中点击Capillary Temperature（毛细管温度）。

      ii. 在Device（设备）微调框中输入**350**，将毛细管温度设置为350 °C。

   g. 设置离子源碎片(CID)碰撞能量：

      i. 在Device Display（设备显示）框中点击Source CID（源内CID）。

      ii. 在Device（设备）微调框中输入**0**，将碰撞能量设置为0 V。

h.设置碰撞压力：

i. 在Device Display（设备显示）框中点击Collision Pressure（碰撞压力）。

ii. 在Device（设备）微调框中输入**1.5**，将碰撞能量设置为1.5 mTorr。

i. 设置碰撞能量：

i. 在Device Display（设备显示）框中点击Collision Energy（碰撞能量）。

ii. 在Device（设备）微调框中输入**-38**，将碰撞能量设置为-38 eV。

j. 设置Quad MS/MS（四极杆MS/MS）偏压：

i. 在Device Display（设备显示）框中点击Quad MS/MS Bias（四极杆MS/MS偏压）。

ii. 在Device（设备）微调框中输入**-3.0**，将偏压设置为-3.0 V。

确保在Device Display（设备显示）框中显示的回读值约等于设置值。(可能需要等待几分钟，使毛细管温度和汽化温度稳定在设定值上。)

6. 配置Syringe Pump（注射泵），自动将利血平样品溶液引入样品定量环：

a. 选择**Setup**（设置）**> Syringe Pump & Sample Loop**（注射泵和定量环），在工作区域右上角显示Syringe Pump and Sample Loop（注射泵和定量环）视图，见图7-6。

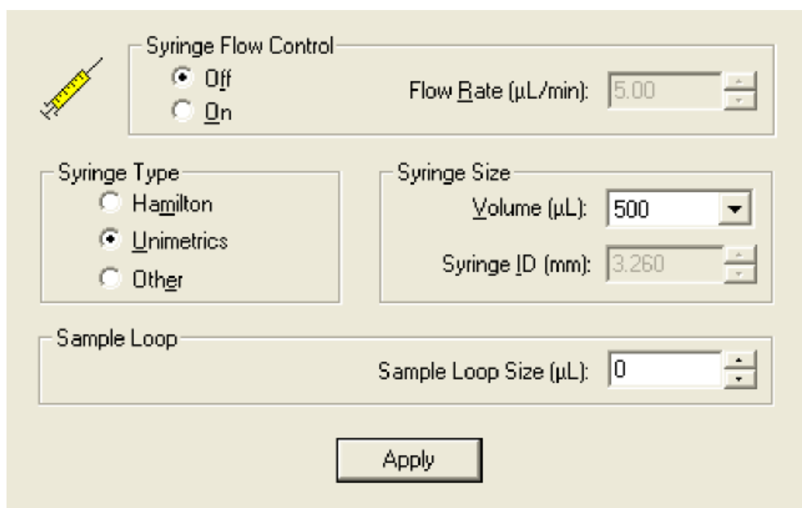


图7-6. 注射泵和样品定量环视图，图中显示的是定量环自动进样配置

b. 在Syringe Flow Control（注射泵流动控制）群组框中选择Off（关闭）选项关闭注射泵：

- 如果用户使用的是Unimetrics或Hamilton注射器，转到步骤6.c。
- 如果用户使用的不是Unimetrics或Hamilton注射器，转到步骤6.e。

c. 在Syringe Type（注射器类型）群组框中选择Unimetrics (或Hamilton)选项按钮，指定所用为Unimetrics (或Hamilton)注射器。

d. 在Syringe Size（注射器尺寸）群组框的Volume（体积）列表框中选择*500* (或者用户注射器的尺寸)，指定用户所用注射器体积为500 µL。

当指定注射器类型和注射器尺寸后，Tune Master自动设置合适的注射器内径值。请转到步骤6.f。

e. 如果用户使用的不是Unimetrics或Hamilton注射器，需要按以下步骤手动指定注射器内径：

i. 在Syringe Type（注射器类型）群组框中选择Other（其它）选项按钮，该操作认定用户使用的不是Unimetrics或Hamilton注射器，并激活Syringe ID（注射器内径）微调框。

ii. 在Syringe Size（注射器尺寸）群组框中，在Volume（体积）列表框中选择用户所用注射器的体积。

iii. 在Syringe ID（注射器内径）微调框中输入所用注射器的内径。

f. 在Sample Loop（样品定量环）群组框的Sample Loop Size（样品定量环量）微调框中输入**5**，指定定量环为5 µL。

g. 点击**Apply（应用）**按钮应用这些设置。现在注射泵已经设置完毕，并按适当的样品量填充定量环。

7. 启动流动相：

a. 在Control / Scan Mode（控制扫描模式）工具栏中点击AS/LC Direct Control（AS/LC直接控制）按钮在工作区域右上角显示Inlet Direct Control（入口直接控制）视图，见图7-7。

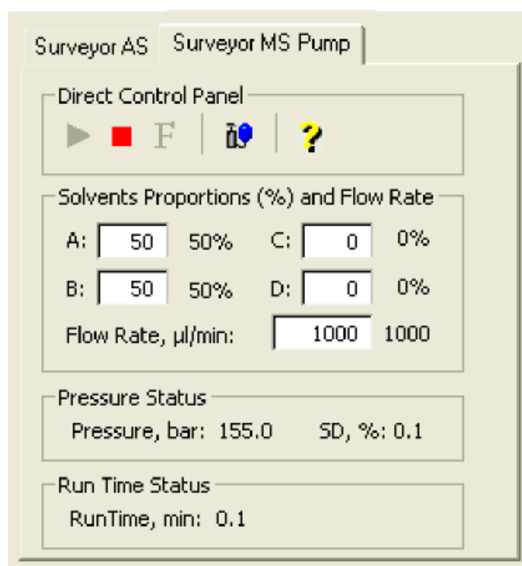


图7-7. 入口直接控制视图，图中显示的是高流速设置

> **注意：**下面的步骤假定装有异丙醇和HPLC级用水的溶剂瓶标签分别为A和B。

b. 将Surveyor MS Pump（Surveyor质谱泵）传送50:50异丙醇/水溶液流速设置为1000 µL/min：

i. 在 Inlet Direct Control（入口直接控制）视图中 Solvents Proportions (%) and Flow Rate（溶剂比例（%）和流速）群组框标志为*A*的文本框中输入**50**指定溶剂A传送量为50%。.

ii. 在标志为*B*的文本框中输入**50**指定溶剂B传送量为50%。

iii. 在Flow Rate（流速）文本框中输入**1000**，指定流速为1000 µL/min。



c. 在Direct Control Panel（直接控制面板）群组框中点击Start（启动）按钮，启动Surveyor 质谱泵。

现在系统设置为自动传送利血平溶液到离子源，以使用用户自己的化合物优化质谱仪。

下面，用户可以为自己的化合物在APCI/MS/MS模式下优化化合物敏感装置。请转到下一节：**使用用户自己的化合物在APCI/MS/MS模式下进行自动优化。**

7.3使用用户自己的化合物在APCI/MS/MS模式下进行自动优化

用户优化质谱仪以期自己的化合物离子传输效率达到最大。进行优化是为了对化合物敏感参数进行精细校准，例如放电电流，毛细管温度，透镜偏移。推荐用户在成功对仪器进行调谐校准后再优化质谱仪。

按如下步骤在APCI/MS/MS模式下对利血平从$m/z = 609.281$到$m/z = 195.066$的离子转换自动优化质谱仪：

1. 在Tune Master中的Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏上点击Compound Optimization Workspace（化合物优化工作区域）按钮，显示Compound Optimization（化合物优化）工作区域，见图7-8。

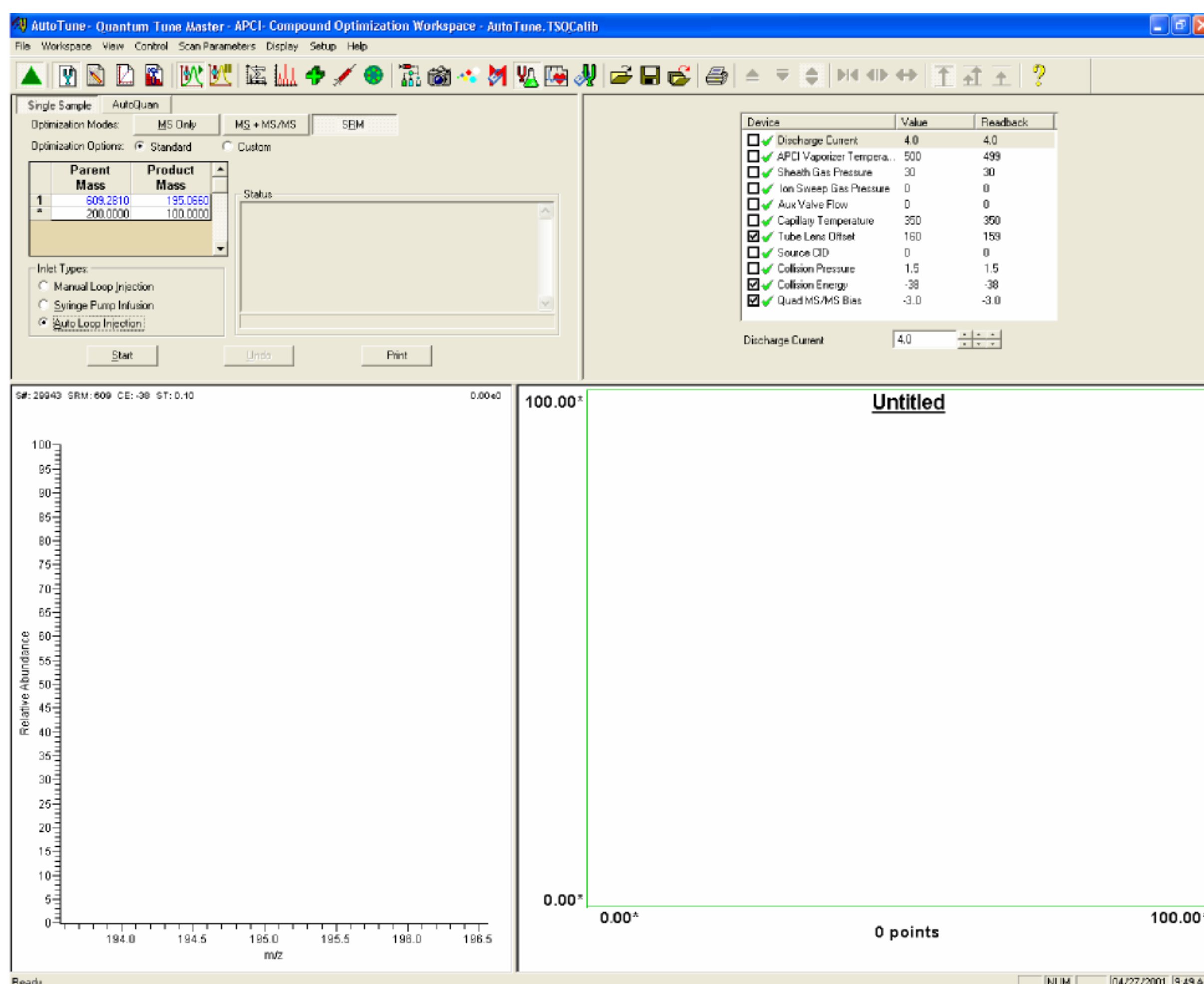


图7-8. 化合物优化工作区域，APCI模式

2. 确保在工作区域左上角中的Compound Optimization（化合物优化）视图中显示的是Single Sample（单样品）页面。

3. 为监测利血平从m/z＝609.281到m/z＝195.066的离子转换设置优化参数：

   a. 选择Optimization Modes: SRM（优化模式：SRM）按钮允许用户优化一个选定的反应，见图7-9。

   b. 选择Optimization Options: Standard（优化选项：标准）选项按钮，优化设备的默认选项。(本配置中，透镜偏移和毛细管温度是默认的需要优化的对化合物敏感的设备)

   c. 在Optimization（优化）表中，输入母离子质量数为**609.281**，将SRM反应的母离子质量数设置为m/z＝609.281。

   d. 输入子离子质量数为**195.066**，将SRM反应的子离子质量数设置为m/z＝195.066。

> **注意：**用户需要选择入口类型选项，以适合用户所使用的将样品引入质谱仪的入口模式。本步骤采用Auto Loop Injection（定量环进样）选项。

   e. 在Inlet Types（入口类型）群组框中，选择Auto Loop Injection（定量环进样）选项按钮，使TSQ Quantum Discovery MAX系统自动引入优化溶液。

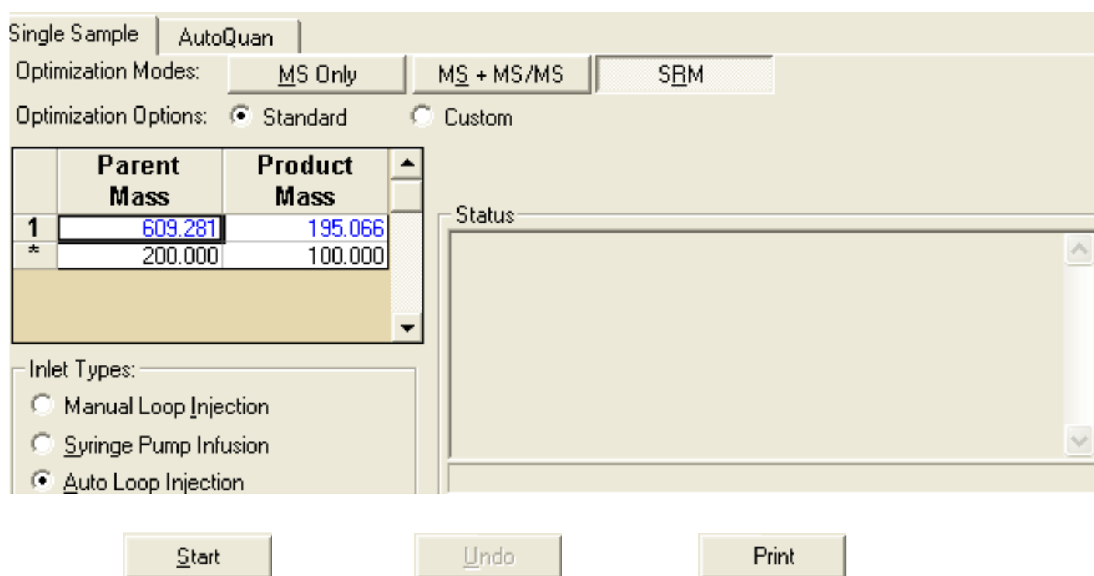


图7-9. 化合物优化视图

4. 点击**Start**（开始）按钮开始自动校准步骤。

> **注意：**如果在化合物优化过程中注射器内溶液用完，仪器会暂停自动校准进程，并显示如下信息：*Syringe out of sample, Reload and click OK.*（*注射器内样品耗尽，请重新装入，然后点击OK*）。如果出现这种情况，重新装入注射器，并点击OK继续进行优化进程。.

当化合物优化成功完成后，在Compound Optimization （化合物优化）视图中的Status（状态）框中会显示*Finish compound optimization*（*完成化合物优化*）信息。见图7-10。

- 如果化合物优化进程完成没有出现错误，并且195.066片断的碎裂曲线为高斯曲线（如图7-11所示）或者为平滑的、斜率为正的曲线，请转至步骤6。（
- 如果在化合物优化过程中出现错误，或者195.066片断的碎裂曲线有振荡、包括多重峰或者极其杂乱，请转到步骤5。

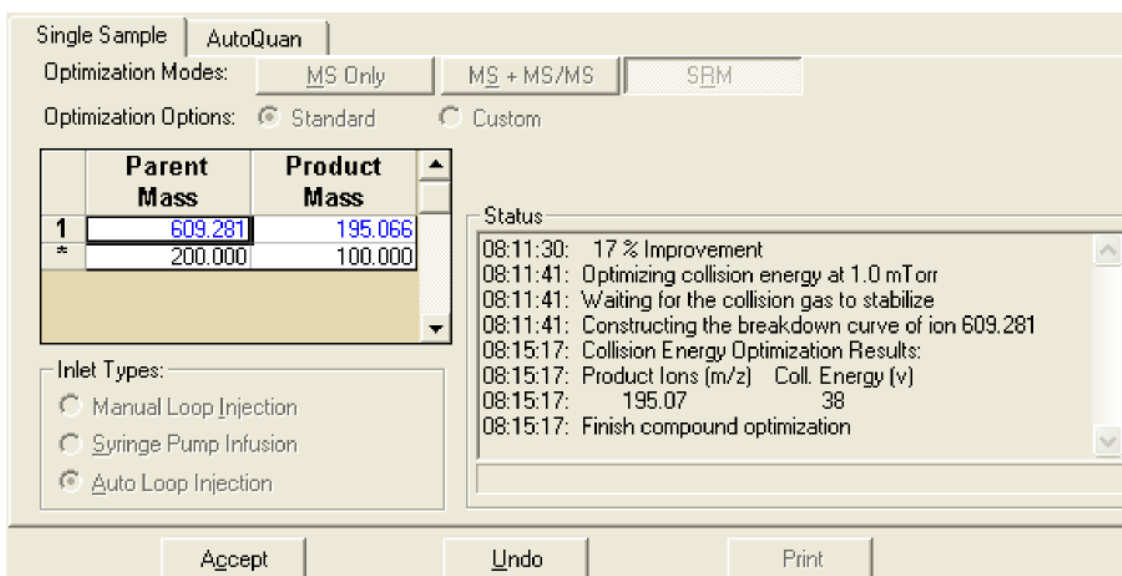


图7-10. 化合物优化工作区域，图中显示的是成功完成化合物优化后的情形

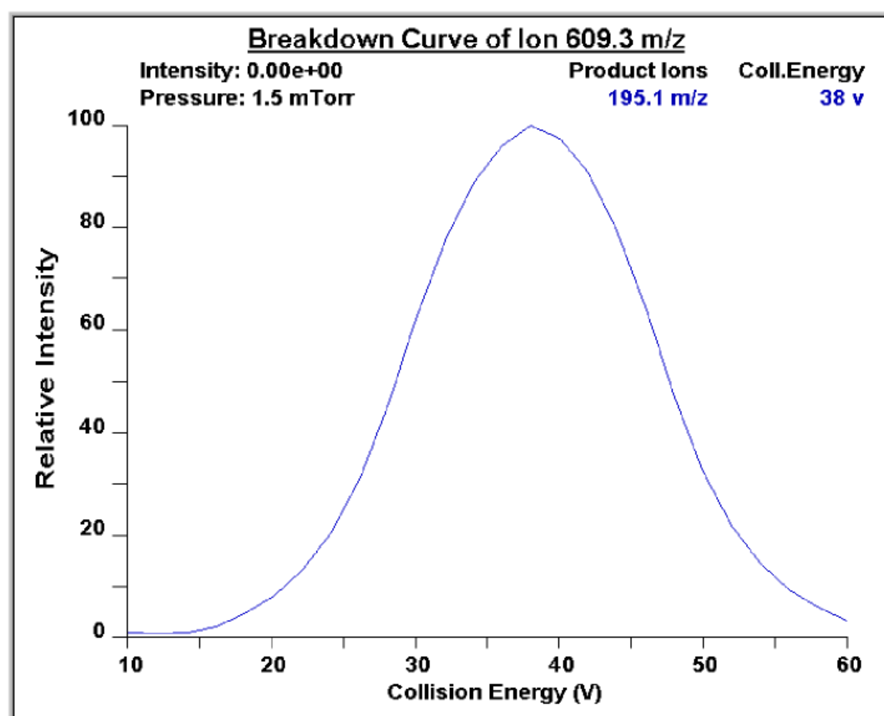


图7-11. 利血平碎裂曲线，图中以子离子在*m/z*＝**195.066**时的相对发射强度为碰撞能量的因变量做曲线

5. 如果在化合物优化过程中出现错误，可通过完成以下操作步骤重新载入以前的对化合物敏感的装置的质谱仪设置：

   a. 点击**Undo**（**撤消**）按钮载入以前的装置设置。

   b. 点击**Accept**（**接受**）按钮将以前的装置设置重新载入到质谱仪。

   c. 处理纠正引起优化过程失败的问题。

   d. 转到本过程的步骤4并且重新开始化合物优化进程。

6. 点击**Accept**（**接受**）按钮接受化合物优化的结果。

> **Note. 注意：**如果离子源参数与其初始设置有任何改变，请在质谱仪为开机状态时保存调谐方法。

7. 通过如下操作保存Tune Method（调谐方法）文件：

   a. 点击**Save Tune As（调谐方法另存为）**打开Save As（另存为）对话框。

   b. 在File Name（文件名称）文本框中为自己的调谐方法输入一个文件名（例如**APCI_reserpine**，或者用户所用化合物的名称)。

   c. 点击**Save（保存）**按钮保存Tune Method（调谐方法）。

   如果用户在步骤7.b中输入的文件名已经存在，会弹出一个信息框讯问用户是否替换已有文件。

   - 如果希望覆盖已有文件，点击**Yes（是）**。
   - I如果不希望覆盖已有文件，点击**No（否）**。然后在File Name（文件名称）框中输入新的名称，并点击**Save（保存）**。

现在质谱仪已经在APCI/MS/MS模式下以化合物利血平（或者用户所用的化合物）进行过优化。T

请转到下一章：**使用Tune Master采集APCI//MS/MS数据。**

第8章
使用Tune Master采集APCI/MS/MS数据

本章为用户提供了如何在APCI/SRM模式下利用Tune Master采集样品数据的信息。本章的实验采用的是利血平，用户可以按同样的步骤对目标分析物进行操作。
本章包括以下部分：

- 在APCI模式下开始通过手动定量环进样引入样品
- 在SRM扫描模式下采集AOCI/MS/MS数据

8.1在APCI模式下开始通过手动定量环进样引入样品

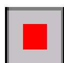
本部分讲述了如何通过手动定量环进样的方法将样品注射到来自LC的流动相，从而将样品引入质谱仪。通过手动定量环进样引入样品的APCI管线连接如图8-1所示。

按如下步骤连接手动定量环进样管线：

1. 关闭流入ESI源的流动相：



   a. 在Tune Master中的Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏上点击AS/LC Direct Control（AS/LC直接控制）按钮，在工作区域右上角显示Inlet Direct Control（入口直接控制）视图，见图8-2。



   b. 在Direct Control Panel（直接控制面板）群组框中，点击Stop（停止）按钮关掉流动相。

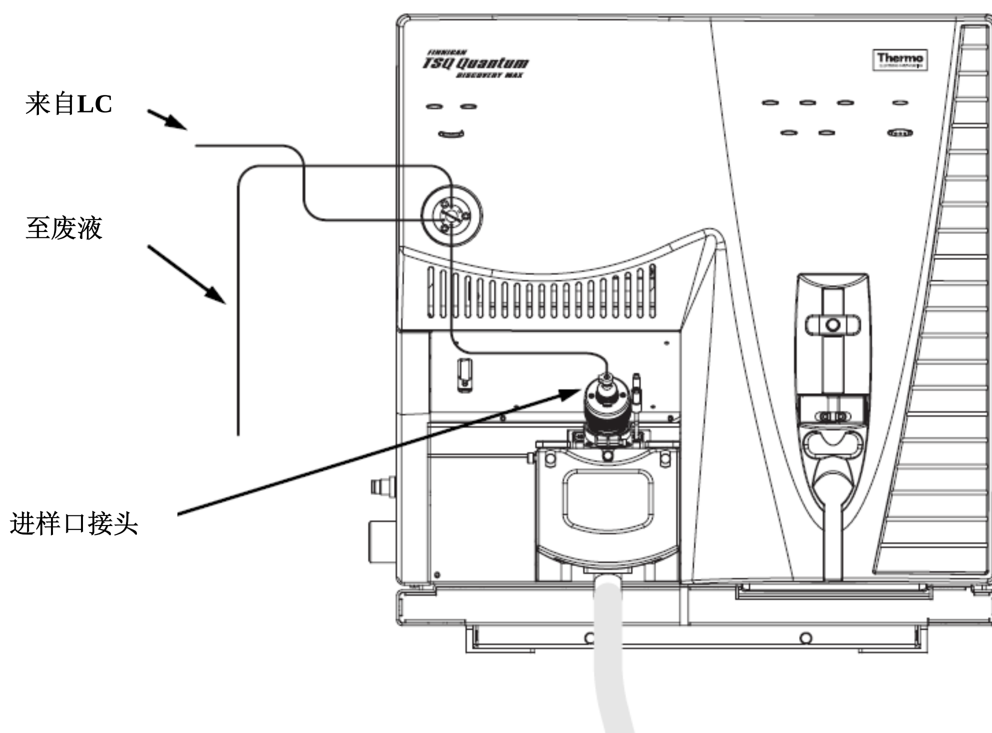


图8-1. APCI/MS进样管路连接

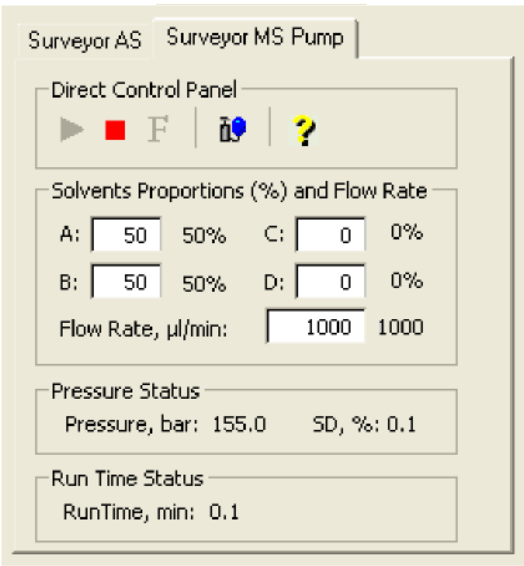


图8-2. 入口直接控制视图，图中显示泵为开启状态


开机


待机

2. 在Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏上点击On/Standby（开机/待机）按钮，将质谱仪置于待机状态。
3. 将注射器从注射泵夹具上拆卸下来：
   a. 在按下注射泵手柄上的黑色释放按钮的同时将手柄抬离注射器。
   b. 取下注射器。
   c. 将注射器针头端部从注射器接头组件上的Teflon管端取下，见图8-3。

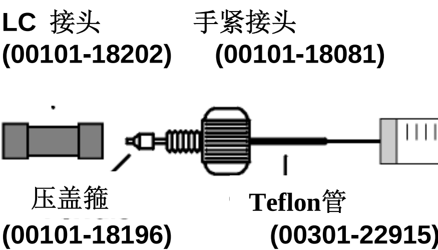


图8-3. 注射器和注射器接头组件

4. 拆除安装在注射器接头组件和转向/进样阀5号端口之间的样品传输管线。5号端口现在用作进样端口，见图8-4。

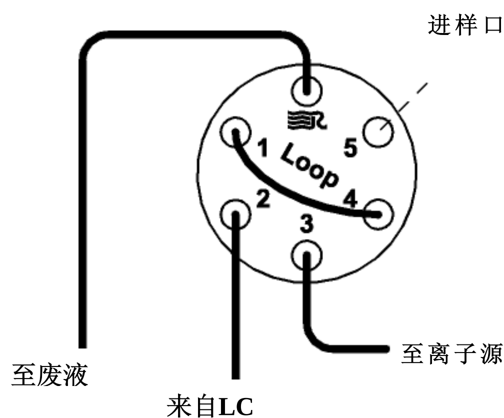


图8-4. 转向/进样阀，图中显示的是手动定量环进样的管线连接

5. 将针头端口接头安装至转向/进样阀：
   a. 将衬管，RheFlex®压盖箍和RheFlex螺母的丝锥部分插入转向/进样阀的5号端口（见图8-5）。
   b. 用手小心旋紧螺母。

现在质谱仪已经装配好，可以实现手动定量环进样。

转到下一部分：**在SRM扫描模式下采集APCI/MS/MS数据**。

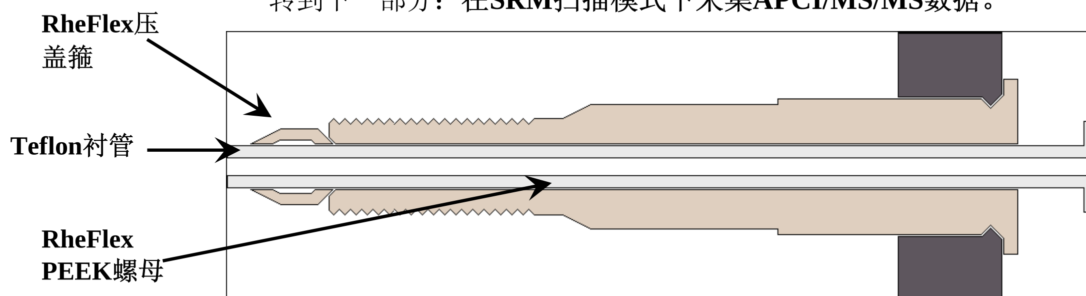


图8-5. 针头端口接头，**P/N 00110-22030**

8.2 在SRM扫描模式下采集APCI/MS/MS数据

按照下列步骤采集在SRM扫描模式下的利血平数据文件。Tune Master自动将用户所采集的数据保存在硬盘上。

1. 在Tune Master中点击Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏上的On/Standby（开机/待机）按钮打开质谱仪。


开机


待机

- 如果用户希望使用当前显示的Tune Method（调谐方法）数据采集，请转到步骤3。
- 如果用户希望使用当前显示的Tune Method（调谐方法）之外的其它方法数据采集，首先需按步骤2所述打开需要的Tune Method（调谐方法）。

2. 打开存储有利血平校准设置的Tune Method（调谐方法）文件，或者根据待测物进行必要的设置：

   a. 在File / Display（文件/显示）工具栏中点击Open File（打开文件）按钮，显示Open（打开）对话框。



   b. 确认当前显示的是*C:\Xcalibur\methods*文件夹，选择*ESI_reserpine.TSQTune*文件（或者用户自己的Tune Method（调谐方法））。

   c. 点击**Open**（打开）按钮，打开该文件。Tune Master将Tune Method（调谐方法）设置下载至质谱仪。

3. 开启流动相：



   a. 在Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏上点击AS/LC Direct Control（AS/LC直接控制）按钮，在工作区域右上角显示Inlet Direct Control（入口直接控制）视图，见图8-6。

> **注意：**下面的步骤假定装有异丙醇和HPLC级用水的溶剂瓶标签分别为A和B。

   b. 设置Surveyor MS Pump（Surveyor质谱泵）传送50:50异丙醇/水溶液速度为400 µL/min：

      i. 在Inlet Direct Control（入口直接控制）视图中Solvents Proportions (%) and Flow Rate（溶剂比例（%）和流速）群组框标志为*A*的文本框中输入**50**，指定溶剂A传送量为50%。

      ii. 在标志为*B*的文本框中输入**50**，指定溶剂B传送量为50%。

      iii. 在Flow Rate（流速）文本框中输入400，指定流速为400 µL/min。

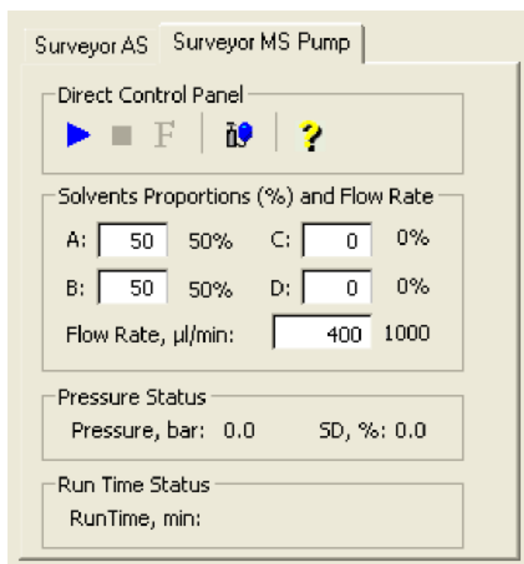


图8-6. 入口直接控制视图，图中显示泵为关闭状态



c. 在Direct Control Panel（直接控制面板）群组框中，点击Start（开始）按钮，启动Surveyor 质谱泵。



4. 在Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏上点击Instrument Method Development Workspace（仪器方法建立工作区域）按钮打开Instrument Method Development（仪器方法建立）工作区域，见图8-7。

5. 根据需要按下列步骤设置采集SRM数据所需的参数：

   a. 在工作区域左上角Define Scan（定义扫描）视图中选择Scan Type: SRM（扫描类型：SRM）按钮选择Selected Reaction Monitoring (SRM)（选择反应监测）扫描类型。

   b. 确定在SRM表中列出的是单个反应，并且确认母离子质量数是609.281，子离子质量数为195.066。

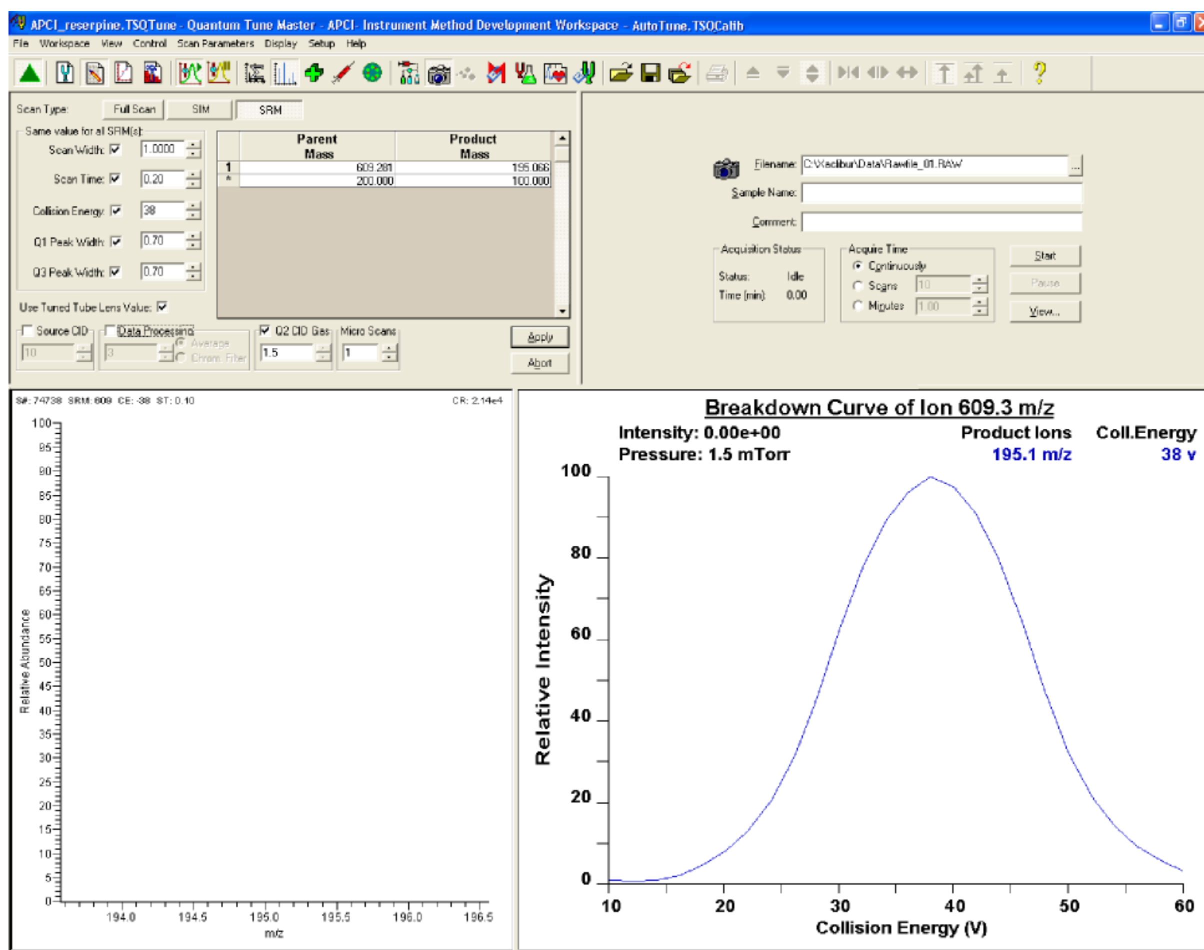


图5-7. 仪器方法建立工作区域

> **注意：**在IDefine Scan（定义扫描）视图中，Same Value For All SRM(s)（所有SRM使用相同值）群组框允许用户为自己的SRM扫描选择全局参数。用户定义为"全局"的任意参数，在用户监测的每个反应中都使用相同的值。要定义一个全局参数，选择参数复选框，并可以通过微调框设置其值。

c. 在Same Value For All SRM(s)（所有SRM使用相同值）群组框中，确保选中所有全局参数复选框，核实或者在相应的微调框中输入如下值：

   i. 在Scan Width（扫描宽度）微调框中输入**1.000**将扫描宽度设置为1.000 u。

   ii. 在Scan Time（扫描时间）微调框中输入**0.20**将扫描时间设置为0.20 s。

iii. 核实在Collision Energy（碰撞能量）微调框中的碰撞能量的显示值近似地等于用户先前进行化合物优化时的输入值-38。(自动优化可能会改变碰撞能量值。)

iv. 在Q1 Peak Width（Q1峰宽）微调框中输入**0.70**，将峰宽设置为 0.70 u。

v. 在Q3 Peak Width（Q3峰宽）微调框中输入**0.70**，将峰宽设置为 0.70 u。

d. 选中Use Tuned Tube Lens Value（使用校准过的透镜值）复选框。

e. 确保没有选中Source CID（源内CID）复选框。

f. 指定3 s chromatography filter（3s色谱过滤器）用来数据采集：

i. 选中Data Processing（数据采集）复选框激活数据采集微调框和选项按钮。

ii. 选择Chrom. Filter（色谱过滤器）选项按钮指定所用的色谱过滤器。

iii. 在Data Processing（数据采集）微调框中输入**3**，指定一个3 s chromatography filter（3s色谱过滤器）。

g. 设定碰撞室气体设置：

i. 在Q2 CID Gas（Q2 CID气体）群组框中选择Q2 CID Gas（Q2 CID气体）复选框指定所用的碰撞气体。

ii. 在Q2 CID Gas（Q2 CID气体）微调框中输入**1.5**将碰撞室气体压力设置为1.5 mTorr。

h. 确认Micro Scans（微扫描）设置为1。

6. 点击**Apply**（**按钮**）应用所设置的质谱仪扫描参数。



7. 在Control / Scan Mode（控制/扫描）工具栏上，点击Display TIC（显示TIC）按钮，在工作区域右下角的Graph（谱图）视图中记录全部的离子流，见图8-8。

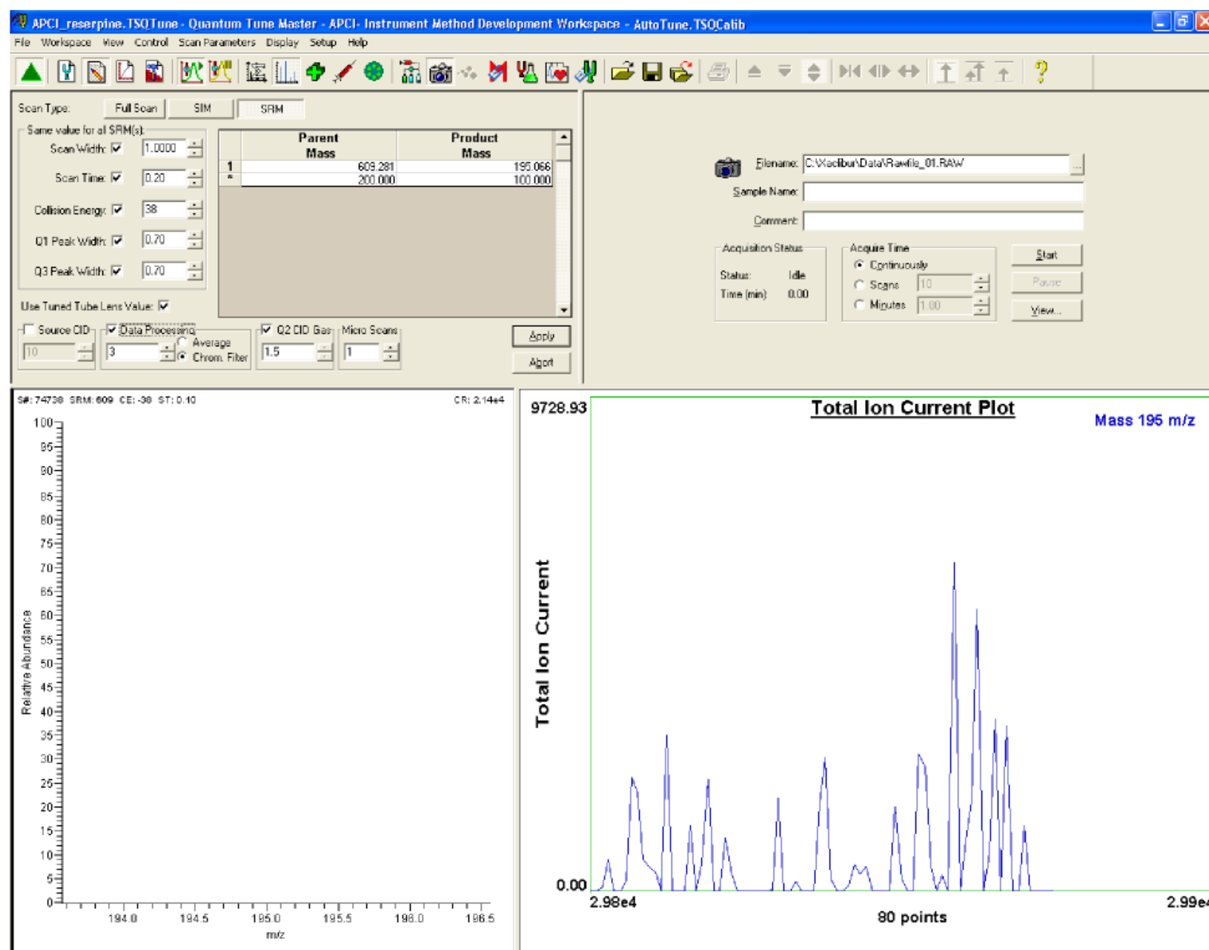


图**8-8.** 仪器方法建立工作区域，图中显示的是**SRM**扫描类型

8. 指定采集参数：



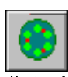
浏览

a. 在工作区域右上角Acquire Data（数据采集）视图中的Filename（文件名称）文本框中输入**C:\Xcalibur\Data\reserpine_01.raw**指定路径和文件名。(用户可以使用浏览按钮选择不同的文件夹。)

b. 在Sample Name（样品名称）文本框中输入**reserpine**指定样品名称。如果用户使用的不是利血平，在此键入被测物的名称。

c. 在Comment（注释）文本框中输入对实验的注释。例如，输入**SRM，ESI，10 pg，loop**标明扫描模式，离子化模式，样品量和进样方式。Xcalibur将注释信息放入用户数据的硬拷贝。

d. 在Acquire Time（数据采集时间）群组框中，选择Continuously（连续）选项按钮，指定除非用户中止，数据采集进程将不间断进行。



载入/检测器



注射/废液

9. 在Control / Scan Mode（控制/扫描模式）工具栏上，确保Divert/Inject Valve（转向/进样阀）按钮处于Load（进样）状态。如果Divert/Inject Valve（转向/进样阀）按钮处于Inject（进样）状态(如左图所示)，点击Divert/Inject Valve（转向/进样阀）按钮将Divert/Inject Valve（转向/进样阀）切换至Load（进样）位置。

10. 在Acquire Data（数据采集）视图中，点击**Start（开始）**按钮开始采集数据，并将数据保存至*reserpine_01.raw*文件中。如果在指定的文件夹中已经存同名文件，则Tune Master会在文件名后顺序添加一串表示时间和日期的数字，如*C:\Xcalibur\Data\reserpine_010502092159.raw*。

注意：为将交叉污染的可能降低到最小，调谐校准溶液、样品溶液和化合物优化溶液，请使用不同的注射器和不同的样品传输管。

11. 使用利血平溶液充填定量环：

a. 确保安装好盛有420 μL浓度为2 pg/μL利血平溶液的注射器。(利血平溶液的配制步骤请参见**附录A：溶液配制**。)

注意：为将交叉污染的可能降低到最小，在重新将注射器插入注射器接头组件中前，一定要用不含麻的棉纸擦拭注射器的端部。

b. 小心地将注射器针头端部插入针头端口上的Teflon管的一端。

c. 用注射器内的利血平溶液过量充填定量环。

12. 按下TSQ Quantum Discovery MAX质谱仪前面板上的蓝色Divert/Inject Valve（转向/进样阀）按钮，将利血平溶液注入LC溶液流。

13. 在Spectrum（谱图）视图中观察利血平产物在*m/z*为195.066时的峰，或者用户目标分析物的峰。

14. 按下列步骤顺序重复实验，在SRM扫描模式下用定量环连续进样，得到利血平谱图。每次注射间隔大约等待1分钟。

    a. 按下TSQ Quantum Discovery MAX质谱仪前面板上的蓝色Divert/Inject Valve（转向/进样阀）按钮，使Divert/Inject Valve（转向/进样阀）回到Load（进样）位置。用2 pg/µL的利血平溶液过量充填定量环。

    b. 再次按下Divert/Inject Valve（转向/进样阀）按钮，将利血平溶液注入LC流动相。然后观察Spectrum（谱图）视图。

    c. 大约等待1分钟后进行下一次注射。

    d. 重复步骤14.a到14.c几次。

15. 在Acquire Data（数据采集）对话框中点击**Stop**（停止）按钮，中止数据采集。

    此时，在SRM扫描模式下的利血平数据文件就被存储在硬盘上(文件名类似*reserpine_010502092159. raw*)。

> **注意：**关于用户利用TSQ Quantum Discovery MAX系统的Xcalibur所采集的数据的更多信息，请参见**Finnigan Xcalibur Getting Productive: Qualitative Analysis.**（定性分析）

16. 要查看刚得到的原始文件中的色谱图，使用Xcalibur Qual Browser窗口，点击**View**（查看）。见图8-9。

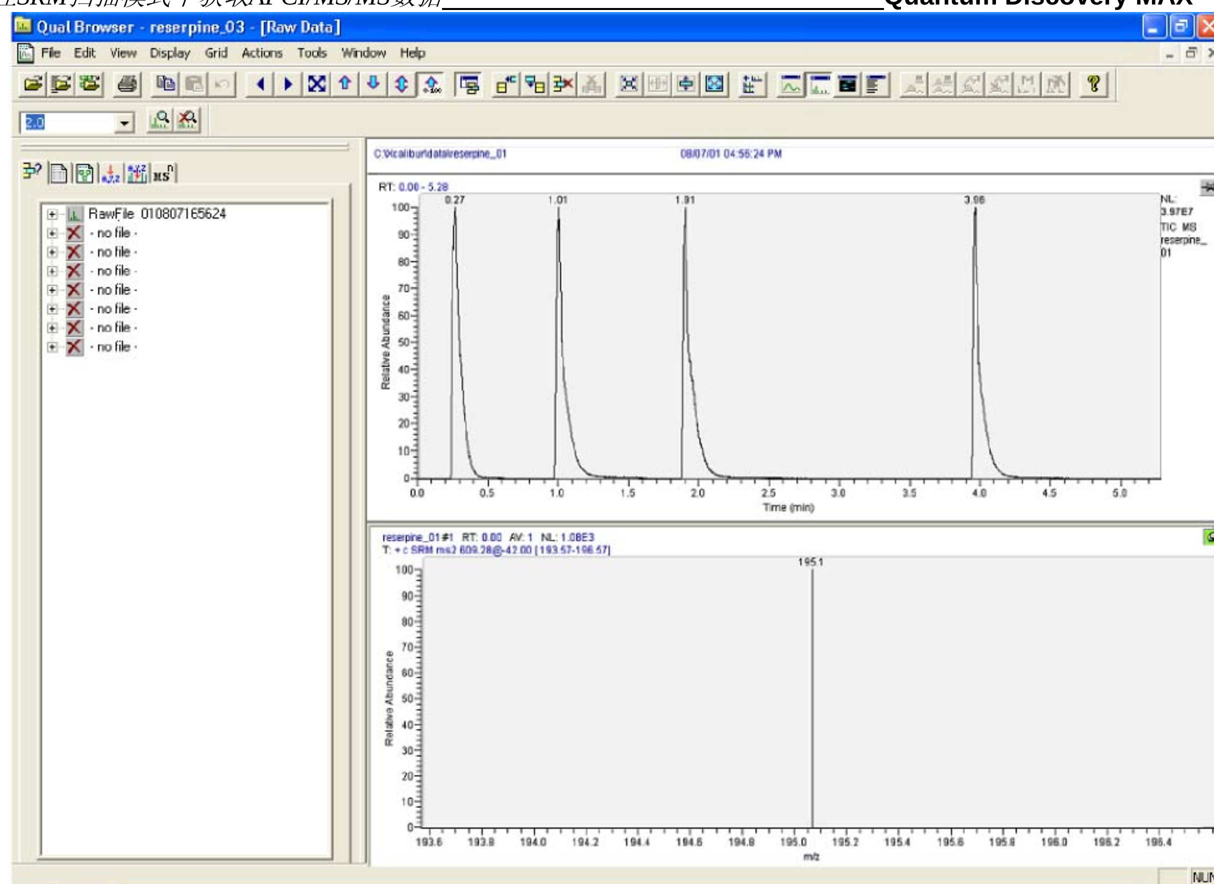


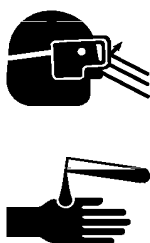
图8-9. Qual Browser窗口，图中显示用定量环注射利血平得到的色谱图（上）和***m/z*＝195.066**质谱图**(**下**)**

附录A
溶液制备

本附录介绍了如何制备用于优化校准质谱仪的调谐校准溶液和利血平溶液。

附录A包括以下几部分

- 调谐校准溶液
- 利血平溶液



危险：避免暴露在有害物质中。当用户使用溶液或腐蚀性物质时，要戴保护手套和安全眼镜。此外，还包括废液的处理和合理的通风。参考用户的供应商提供的化学品安全信息卡 (MSDS)，获得正确处理相关溶液的方法。

用户在处理化学品和未知样品时，一定要提高安全警惕。**阅读并了解下面配制溶液所用化学品的毒性。**通过适当的方法处理所有实验室用试剂。

化学品安全信息卡(MSDS)提供了有毒有害化学品的综合信息。MSDSs同时也提供了正确处理化合物的方法，发生意外救护方法和溅出或泄漏时的补救措施。法律规定化学品生产商和供应商必须以MSDS的形式为其用户提供最新的健康和安全信息。用户要阅读每一种所使用的化学品的MSDSs。本手册中使用的有害化学品举例如下：

- 乙酸
- 甲醇
- 利血平

A.1 调谐校准溶液

本部分提供了两种制备适合调谐校准质谱仪的聚酪氨酸–1,3,6溶液的方法。

第一种方法介绍了如何用装有预先称量好一定质量的聚酪氨酸干燥粉末(外观为渣滓状)的20-mL瓶(P/N 00301-22925)重新配制调谐校准溶液。这种小瓶可以在附件包中找到。

第二种方法介绍了如何使用用户储备的干燥化学品制备调谐校准溶液。

在附件包中还提供一瓶20-mL聚酪氨酸-1,3,6溶液(P/N 00301-22924)，无需稀释。该溶液的浓度适合直接注射到质谱仪中。

表A-1给出了附件包中提供的聚酪氨酸标准物的概要。

表A-1.　　附件包中提供的聚酪氨酸标准物

标准物描述 (标签上)	热电公司产品号	C S生物公司产品号
聚酪氨酸标准物 液态	00301-22924	CS0272L
聚酪氨酸标准物 固态	00301-22925	CS0272S

使用预混合瓶制备聚酪氨酸– 1,3,6调谐校准溶液

按如下步骤用装有聚酪氨酸固体(P/N 00301-22925)的预混合瓶，重新制备聚酪氨酸–1,3,6调谐校准溶液：

1. 从附件包中取出装有预混合的聚酪氨酸试剂的瓶子。
2. 用0.1%甲酸50:50甲醇/水溶解瓶中的聚酪氨酸粉末，并定容至总体积为20 mL。即可得到Tyr浓度为4 ng/µL，$(Tyr)_3$浓度为12 ng/µL和$(Tyr)_6$浓度为24 ng/µL的混合溶液。(Tyr—酪氨酸)
3. 将瓶上贴上*Polytyrosine–1,3,6 调谐校准溶液*的标签，并储存在冰箱内。

使用用户储备的干燥化学品制备聚酪氨酸–1,3,6调谐校准溶液

按照如下步骤利用储备的干燥化学品制备250 mL聚酪氨酸–1,3,6调谐校准溶液：

1. 称取1 mg L-tyrosine，3 mg $(Tyr)_3$和6 mg $(Tyr)_6$并转移至洁净干燥的250-mL容量瓶内。
2. 用0.1%甲酸50:50甲醇/水溶解聚酪氨酸混合物，并定容至总体积为250 mL。即可得到Tyr浓度为4 ng/µL，$(Tyr)_3$浓度为12 ng/µL和$(Tyr)_6$浓度为24 ng/µL的混合溶液。(Tyr—酪氨酸)
3. 将该溶液转移到贴有*Polytyrosine–1,3,6 调谐校准溶液*标签的干净的瓶中，并储存在冰箱内。

表A-2给出了制备调谐校准溶液所用化合物的基本信息。

表A-2. **聚酪氨酸调谐校准标准概要**

化合物	分子式	分子量	销售商	销售商P/N
L-Tyrosine	$C_9H_{11}NO_3$	181.19	Sigma	T8566
Tyr-Tyr-Tyr	$C_{27}H_{29}N_3O_7$	507.54	Sigma	T2007
$(Tyr)_6$	$C_{54}H_{56}N_6O_{13}$	997.07	Sigma	T1780

注意：用户可以直接从热电公司、San Jose公司定购标准化学品，或者可与下面这些化学品供应商联系：

Sigma Chemical Company
P.O. Box 14508
St. Louis, MO, USA 63178-9916
(800) 325-3010 (美国或加拿大境内)
[1] (314) 771-3750 (美国或加拿大境外)

C S Bio Company
1300 Industrial Road
San Carlos, CA, USA 94070
(800) 627-2461 (美国或加拿大境内)
[1] (650) 802-0880 (美国或加拿大境外)

A.2 利血平溶液

按下面介绍的方法制备利血平储备溶液。然后用连续稀释法将储备溶液制备成化合物优化所用溶液。

利血平储备溶液

按下列步骤制备浓度为1 µg/µL的利血平溶液储备液，溶剂为含1%乙酸的甲醇：

1. 在附件包中找到盛有1 g利血平粉末的瓶子，称取10 mg利血平并将其转移至10 mL容量瓶内。
2. 向10 mL容量瓶中加入1%的乙酸甲醇溶液，定容。
3. 彻底混合均匀。
4. 将溶液转移至一个洁净、干燥的瓶中。
5. 将瓶子贴上*Reserpine储备溶液 (1 µg/µL)*的标签。

利血平样品溶液

按下列步骤制备1 mL利血平浓度为2 pg/µL (3.29 fmol/µL)的化合物优化溶液，溶剂为含1%乙酸的甲醇：

1. 用吸量管移取20 µL利血平储备溶液(1µg/µL)，放入洁净的聚丙烯微量离心管中。
2. 向管中加入980 µL含有1%乙酸的甲醇。
3. 将该溶液(20 ng/µL)彻底混合均匀。
4. 转移10 µL浓度为20 ng/µL的溶液至洁净的聚丙烯管中。
5. 向管中加入990 µL含有1%乙酸的甲醇。
6. 将该溶液(200 pg/µL)彻底混合均匀。
7. 将转移10 µL浓度为200 pg/µL的溶液至洁净的聚丙烯管中。
8. 向管中加入990 µL含有1%乙酸的甲醇。
9. 将该溶液(2 pg/µL)彻底混合均匀。
10. 把瓶子贴上*TSQ Quantum Discovery MAX利血平样品溶液 (2 pg/µL)* 并将其储存在冰箱内。

附录B
仪器方法建立指南

本附录提供了建立仪器方法的指南。这里所提供的设置是选用聚酪氨酸样品来示范不同的分析技术，因此，可能不能直接应用于用户的实际使用。用户要建立一个仪器方法，首先需要通过优化自己的化合物来精细校准仪器。

下表中所提供的仪器设置可以通过Tune Master中的Instrument Method Development（仪器方法建立）工作区域应用于质谱仪。通过这些设置，用户在自己建立一个方法前，可以评估仪器分析目标化合物的性能状况。用户在使用Tune Master获得所需要的结果后，扫描事件扫描结果可以复制粘贴至Instrument Setup（仪器设置）窗口。

从Tune Master中拷贝扫描事件：在Instrument Method Development（仪器方法建立）工作区域中的Define Scan（定义扫描）视图中点击右键，然后从快捷菜单中选择**Copy Scan Event**（**复制扫描结果**）。将扫描事件粘贴至Instrument Setup（仪器设置）：在Scan Editor（扫描编辑器）中的Instrument Setup（仪器设置）页面上单击右键，从快捷菜单中选择**Paste Scan Event**（**粘贴扫描结果**）。

表B-1. Q1MS全扫描仪器参数

能量模式	起始质量数(m/z)	最终质量数(m/z)	扫描时间(s)	Q1峰宽(u)	CID源	数据采集	Q2 CID气
FM/LM	150.000	1050.000	0.65	0.70	关	平均10个谱图	关

表B-2. Q3MS全扫描仪器参数

能量模式	中心质量数(m/z)	扫描宽度（u）	扫描时间(s)	Q3峰宽(u)	CID源	数据采集	Q2 CID气
中心质量	182.082	6.000	0.20	0.20	关闭	平均10个谱图	关

表B-3. MS/MS母离子全扫描仪器参数

能量模式	中心质量数(m/z)	扫描宽度（u）	扫描时间(s)	子离子质量数(m/z)	碰撞能量(eV)	Q1峰宽(u)	Q3峰宽(u)	CID源	数据采集	四极杆MS/MS偏压（V）	Q2 CID气(mTorr)
中心质量	182.082	10.000	0.20	136.076	20	0.70	0.70	关	平均10个谱图	-3	0.8*

* 在母离子扫描模式下，Q2 CID气体压力会降低，以保持峰形和峰分辨度。

表B-4. MS/MS子离子全扫描仪器参数

能量模式	中心质量数(m/z)	扫描宽度（u）	扫描时间(s)	母离子质量数(m/z)	碰撞能量(eV)	Q1峰宽(u)	Q3峰宽(u)	CID源	数据采集	四极杆MS/MS偏压（V）	Q2 CID气(mTorr)
中心质量	182.082	10.000	0.20	182.082	18	0.70	0.70	关	平均10个谱图	-3	1.5

表B-4. MS/MS子离子全扫描仪器参数

能量模式	中心质量数(m/z)	扫描宽度（u）	扫描时间(s)	中性失脱离子质量数(m/z)	碰撞能量(eV)	Q1峰宽(u)	Q3峰宽(u)	电荷状态	CID源	数据采集	四极杆MS/MS偏压（V）	Q2 CID气
中心质量	182.082	10.000	0.20	17.027	18	0.70	0.70	1(Q1&Q3)	关	平均10个谱图	-3	1.5

表B-6. SIM Q1MS或Q3MS扫描模式仪器参数

质量数(m/z)	扫描宽度(u)	扫描时间(s)	Q1峰宽(u)	Q3峰宽(u)	使用调谐过的	CID源	数据采集	Q2 CID气体
182.082	**6.000**	**0.20**	**0.70**	**0.70**	开	关	平均**10**个谱图	关
508.208	**6.000**	**0.20**	**0.70**	**0.70**	开	关	平均**10**个谱图	关
997.398	**6.000**	**0.20**	**0.70**	**0.70**	开	关	平均**10**个谱图	关

表B-7. SIM母离子MS/MS扫描模式仪器参数

质量数 (m/z)	扫描宽度 (u)	扫描时间 (s)	子离子质量数(m/z)	碰撞能量 (eV)	Q1峰宽(u)	Q3峰宽(u)	使用调谐过的透镜参数	CID源	数据采集	四极杆MS/MS偏压(V)	Q2 CID气体
182.082	6.000	0.20	136.076	20	0.70	0.70	开	关	平均10个谱图	-3	0.8*
508.208	6.000	0.20			0.70	0.70	开	关	平均10个谱图	-3	0.8*

***Q2 CID**气体压力在母离子**MS/MS**扫描模式下会降低，以保持峰形和峰分辨度。

表B-8. SIM子离子MS/MS扫描模式仪器参数

质量数 (m/z)	扫描宽度 (u)	扫描时间 (s)	母离子质量数(m/z)	碰撞能量 (eV)	Q1峰宽(u)	Q3峰宽(u)	使用调谐过的透镜参数	CID源	数据采集	四极杆MS/MS偏压(V)	Q2 CID气体
136.076	6.000	0.20	**182.082**	18	0.70	0.70	开	关	平均10个谱图	-3	1.5
165.055	6.000	0.20			0.70	0.70	开	关	平均10个谱图	-3	1.5

表B-9. SIM中性失脱离子MS/MS扫描模式仪器参数

质量数 (m/z)	扫描宽度 (u)	扫描时间 (s)	中性失脱离子质量数(m/z)	峰宽(u)	碰撞能量 (eV)	使用调谐过的透镜参数	CID源	数据采集	四极杆MS/MS偏压(V)	Q2 CID气体
136.076	6.000	0.20	**17.027**	0.70	18	开	关	平均10个谱图	-3	1.5

表B-10. **SRM MS/MS扫描模式仪器参数**

扫描宽度(u)	扫描时间(s)	Q1峰宽(u)	Q3峰宽(u)	使用调谐过的透镜值	母离子质量数(m/z)	子离子质量数(m/z)	碰撞能量(eV)	CID源	数据采集	四极杆MS/MS偏压(V)	Q2 CID气体
6.000	0.20	0.70	0.70	开	**182.082**	136.076	18	关	平均10个谱图	−3	1.5
6.000	0.20	0.70	0.70	开	**182.082**	165.055	10	关	平均10个谱图	−3	1.5
6.000	0.20	0.70	0.70	开	**508.208**	136.076	38	关	平均10个谱图	−3	1.5
6.000	0.20	0.70	0.70	开	**508.208**	299.140	24	关	平均10个谱图	−3	1.5
6.000	0.20	0.70	0.70	开	997.398	136.076	60	关	平均10个谱图	−3	1.5
6.000	0.20	0.70	0.70	开	997.398	299.140	54	关	平均10个谱图	−3	1.5

附录C 微流操作

本附录提供了微流配置下运行系统的操作指南。

> **注意：**安装和拆卸钝尖，32或34-直径不锈钢针头的介绍，请参考**Finnigan Ion Max API源硬件手册。**

当用户使用不锈钢金属针时，需要调节质谱仪运行参数，以产生电喷雾。参见表C-1操作指南。

要利用在微流配置中可以使用的低流速，用户需要将分析柱中流出的部分流动相分流到废液。典型的废液与ESI比例从50:1到200:1。对于200 μL/min的HPLC流速，用户可以在分析柱前加装一个死体积很小的T型接头，使用50 cm长，内径为50 微米的限制性毛细管传输被分流的液体流向废液。

> **注意：**流动相流速是LC系统或者注射泵流出的溶剂的流速。如果安装有T型分离装置，通过电喷雾针头的流速将降低。

表C-1.　　微流操作操作指南

不锈钢针	流动相流速 (μL/min)	毛细管温度 (°C)	鞘气压力 (psi)	辅助气流速 (units)	喷雾电压 (kV)
34-直径	0.5 – 50	150 – 200	0 – 5	0	1.5 – 4.0
32-直径	1 – 400	200 – 250	0 – 10	0	1.5 – 4.0

Index

I

L

M

N

P

R

S

T

U